

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Departamento de Medicina y Cirugía Animal**



**TESIS DOCTORAL**

**Radiocirugía hipofisaria con gamma knife en perros con  
hiperadrenocorticismismo hipofisario**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Ana María Vicente Montaña**

Directores

**M<sup>a</sup> Dolores Pérez Alenza  
Roberto Martínez Álvarez**

**Madrid, 2016**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA ANIMAL**



**RADIOCIRUGÍA HIPOFISARIA CON GAMMA  
KNIFE EN PERROS CON  
HIPERADRENOCORTICISMO HIPOFISARIO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Ana M<sup>a</sup> Vicente Montaña**

**Dirigida por:**

**D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Dolores Pérez Alenza**

**Roberto Martínez Álvarez**

**Madrid 2015**



***A mi padre,** por su ejemplar dedicación, rectitud y constancia.*



***A Rasta,** mi pequeña de ojos azabache, por su lealtad, por su intensa lucha  
que me regaló 2 años más de amor y ternura.*



## AGRADECIMIENTOS

Parece mentira que al fin me esté enfrentando a estas últimas páginas después de tanto tiempo, ni yo misma creía que este momento llegaría, pero aquí está. Son muchas las personas a las que tengo que agradecer llegar hasta aquí, por múltiples motivos, por sus aportaciones científicas, por su revisión de estilo, por facilitarme todo para poder dedicar el tiempo necesario, por darme ánimos para terminar... En fin, mucha gente que de una u otra manera han aportado algo para que este proyecto llegue al final.

A mis padres, a quienes les debo todo, como soy y lo que soy, quiero agradecerles el haber puesto a mi disposición tantas oportunidades. Y a mis hermanos, Merce y Jesús, gracias por estar ahí, por vuestra participación en “el cómo soy” y el ejemplo que los dos sois para mí. A Helena y Mercedes, que os voy a decir... ¡qué sois las mejores!, y las dos pequeñas, las “Melli”, Cristina y María, que sois un soplo de aire fresco y nos habéis dado un poco de alegría este año.

A mis directores, los Dres. Roberto Martínez y Lola Pérez Alenza. A Roberto por proponer la idea de este trabajo y por su infinita paciencia esperando unos resultados que se han dilatado tanto en el tiempo, y sobre todo por poner a nuestro alcance semejantes medios médicos, casi inalcanzables aún en el mundo veterinario, y por supuesto por “robar” aquellos sábados familiares para la progresión de este trabajo. A Lola, que te voy a decir, por ser además de directora amiga, por estar para las risas y para los llantos, por tu paciencia, por tu entusiasmo, por tus enseñanzas endocrinas. Y te pido perdón por este último mes sin respiro....Miles de gracias. Y como no, por tus cuidados con Rasta.

A la “compañía de los sábados”, los Dres. Nuria Martínez y Germán Rey. Otros “ladrones” de sábados. Gracias por vuestra ayuda, por privar a vuestras familias de aquellas horas para dedicarlas a aquellos perritos y hacerlo con tanto cariño. Nuria! al final, después de tanto esfuerzo persiguiéndome: ¡Lo has conseguido!, ya está hecho, mil gracias por tus ánimos y por tu ayuda.

Al Dr. Juan Álvarez Linera-Prado, que formaba parte de aquel grupo de los sábados radioterápicos poniendo a nuestra disposición la resonancia y todo su buen hacer y saber.

A Nacho Sáñez y Mario Arenillas, anestelistas de los perros incluidos en este estudio. Muchas gracias por vuestro trabajo fuera del horario habitual.

Al Dr. Adolfo Jiménez, por su inestimable ayuda con la estadística y por hacerme entender un poco lo que hasta ahora consideraba un auténtico galimatías.

A Javier Gálvez, que además de participar en mi progresión en el conocimiento de la resonancia ha dedicado tiempo libre con el resto de los “ladrones”.

Quiero agradecer a los Dres. Juan Carlos Illera y Gema Silván su buena disposición para echarme una mano en todo momento, poniendo a mi alcance su laboratorio, medios y conocimientos para que pudiera realizar las determinaciones hormonales y por acogerme durante aquellos días con tanto cariño.

A la Dra. Laura Peña por su aportación con el diagnóstico histopatológico de las necropsias y por su dedicación a aquellas hipófisis con tanto empeño.

Al Dr. Pablo Hernández Cruza, que en el último momento salvó la situación hormonal prestándonos su equipo de lectura.

Al Dr. Santiago Oliete que me acogió en su Servicio de Diagnóstico por imagen poniendo a mi disposición todo su equipo técnico y humano para mi formación. Una época inolvidable.

A mis tres tenores de la sala de lecturas del Ruber Internacional, lo Dres. José Escribano, Fernando Herráiz y Ricardo Wert, por dedicar tanto tiempo a sacarme de la ignorancia radiológica y darme tan buena acogida y tan buenos momentos en aquella sala tan familiar.

Al Director del Centro de Microscopía Electrónica, el Dr. José G. Calbet, porque me ha facilitado en todo momento que este y otros proyectos progresen adecuadamente. ¡Muchas gracias Jefe!, a pesar de que no las tenías todas contigo apostaste y aquí está, la ... tesis de Ana.

Al Dr. Roberto Elices, por prestarme en los periodos no lectivos una sala en su clínica para hacer los seguimientos de los perros.

A Chiti, amiga, por hacer de aquellos días unos momentos entrañables, llenos de risas y diversión mientras aprendíamos los entresijos de la RM.

A mis amigos Carmen Delgado y Álvaro Díaz, tengo mucho que agradecerles, porque siempre han estado conmigo para lo bueno y para lo muy malo, recogiendo mis cachitos, dándome apoyo y cariño. Carmen, aunque sé que casi habías tirado la toalla, aquí está al fin, tú también los has conseguido.

A José, mi revisor de estilo particular, mil gracias, por la revisión, por aguantar el estrés de este último mes, por tus aportaciones científicas y personales. Por esperarme en casa con mis niños, pobrecitos, a los que he robado horas de juegos por este y otros asuntos. Gracias a todos, pequeña manada por aguantarme.

Jimenita, al fin vamos a completar el club de las doctoras!, nos ha costado un poco más pero todo llega... tenemos una vida muy atareada.

A Mónica, Moni Peni, aún desde la distancia has estado apoyándome siempre, con este y otros proyectos, mil gracias por estar ahí. Junto con Sarita, que tampoco me olvido de tí. Por los momentos de risoterapia que me habéis brindado.

Pedro Aranda, muchas gracias por tu tiempo de laboratorio para sacar adelante las muestras histológicas, por ser un buen compañero de trabajo y por aquellos momentos de la "sala de corcho".

Marta, miles de gracias por todos estos años de amistad, por estar siempre ahí, para los marrones, que cada vez que llamo.... En fin, espero que tengamos una temporada de tranquilidad. Y porque a pesar de lo tardona que he sido nunca has tirado la toalla.

A Manoli y a Juan, gracias por las oportunidades que me habéis brindado para conocer mejor y participar en los entresijos de esta Universidad y por vuestro apoyo incondicional.

A Jos y a Yasmina, que os voy a decir, solo cosas buenas. Jos, gracias por abrirme puertas en el mundo de la anatomía, gracias por aquellas tardes de Cardiosonic (y por las crónicas vampíricas) y por animarme a llegar al final de esta tesis. Yasmina, miles de gracias también por los buenos momentos de la sala de la “alegría”, por poder contar siempre contigo y por ser la mejor compañera que se pueda desear, además de una amiga.

A Myriam, mi nueva compi del Centro que estos días de agobio me ha echado todas las manos posibles y me ha supervisado lo que hacía porque estaba en otra cosa, en esta cosa. Mil gracias por estar dispuesta a echarme una mano también con esta escritura.

A mi pequeña y recientemente mermada manada: Rasta (aunque ya no estés), Truco, Tito, Pikoto, Hispi y Areno, porque alegráis mis días y me quitáis el estrés, porque siempre estáis y habéis permanecido ahí esperando y dispuestos a un rato de juego.





## Contenido

AGRADECIMIENTOS.....	
RESUMEN .....	
SUMMARY .....	
LISTA DE ABREVIATURAS.....	
I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS .....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	7
1.- Glándula hipofisaria .....	7
1.1. Anatomía .....	7
1.2. Histología.....	10
2.- Glándulas adrenales.....	11
2.1. Anatomía e histología .....	11
3.- Eje hipotálamo-hipófisis-adrenales.....	11
3.1. Hormona adrenocorticotropa (ACTH) .....	13
3.2. Hormona alpha melanotropa ( $\alpha$ -MSH) .....	14
3.3. Hormonas de la corteza adrenal .....	15
4.- Hiperadrenocorticismo canino.....	17
4.1. Etiología y tipos de hiperadrenocorticismo canino.....	17
4.2. Hiperadrenocorticismo hipofisario .....	17
4.3. Cuadro clínico del hiperadrenocorticismo canino .....	20
4.4. Diagnóstico del hiperadrenocorticismo canino .....	27
4.5. Tratamiento del hiperadrenocorticismo canino .....	41
III. MATERIAL Y MÉTODOS .....	59
1. Animales.....	59
2. Protocolo diagnóstico de hiperadrenocorticismo .....	59
2.1 Historia y examen físico .....	59
2.2. Pruebas complementarias.....	60
3. Consentimiento informado del propietario .....	61
4. Procedimiento de Resonancia Magnética y Tratamiento de radiocirugía .....	62
5. Postoperatorio.....	73
6. Seguimiento y evolución del hiperadrenocorticismo.....	73
7. Determinaciones hormonales .....	74
8. Estudio estadístico de los datos .....	75

9. Estudio de necropsia y análisis histológico .....	76
IV. RESULTADOS .....	79
1. Animales.....	79
2. Diagnóstico de hiperadrenocorticismo.....	82
3. Hallazgos en la Resonancia Magnética .....	83
4. Tratamiento con radiocirugía (RCGK) .....	88
5. Evolución de los animales tras la radiocirugía .....	90
5.1. Primera semana tras la RCGK.....	90
5.2. Primer mes tras la RCGK.....	94
5.3. Primer trimestre tras la RCGK .....	97
5.4. Segundo trimestre tras la RCGK .....	101
5.5. Tercer trimestre tras la RCGK.....	105
5.6. Un año tras la RCGK.....	108
5.7. Año y medio tras la RCGK.....	112
5.8. Dos años tras la RCGK.....	114
6. Supervivencia de los animales .....	116
7. Evolución de las hormonas tras la radiocirugía .....	119
7.1. Hormona adrenocorticotropa (ACTH).....	119
7.2. Hormona estimulante de los melanocitos ( $\alpha$ - MSH).....	121
7.3. ADH o VASOPRESINA.....	124
7.4. PROLACTINA .....	126
7.5. HORMONA LUTEINIZANTE (LH) .....	128
7.6. HORMONA TIROTROPA (TSH) .....	130
7.7. SOMATOMEDINA C o IGF1 .....	132
7.6. CORTISOL PRE Y POSTESTIMULACIÓN CON ACTH.....	134
8. HALLAZGOS DE NECROPSIA .....	137
V. DISCUSIÓN.....	145
VI. CONCLUSIONES.....	169
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	173
ANEXO I .....	199
ANEXO II .....	200
ANEXO III .....	204

# Resumen

---



## **RESUMEN**

El hiperadrenocorticismo (HAC) es una de las endocrinopatías más frecuentes en la especie canina, con una incidencia aproximada de 1-2/1000 perros/año. En el 80-85% de los casos el origen se encuentra en un exceso de secreción de hormona adrenocorticotropa (ACTH) provocado por un tumor hipofisario, denominándose HAC hipofisario. En el 15-20% restante el origen del HAC es un tumor (adenoma o carcinoma) adrenocortical que secreta una cantidad excesiva de glucocorticoides, denominándose HAC adrenal, y en un escaso porcentaje de casos, la etiología se sitúa ectópicamente a ambas glándulas.

En la revisión bibliográfica de esta Tesis Doctoral se proporciona una visión general de la anatomía hipofisaria en la especie canina, de la regulación y de la síntesis de las hormonas hipofisarias y adrenales que intervienen en el desarrollo del HAC. Se describen los síntomas y signos clínicos de la enfermedad, los métodos de diagnóstico y las opciones terapéuticas farmacológica, quirúrgica y radioterápica.

En el perro, la determinación del origen del hiperadrenocorticismo, hipofisario o adrenal, no se hace mediante técnicas de imagen rutinarias, debido a que la lesión hipofisaria que lo provoca se encuentra en la base del cráneo, una zona difícil de visualizar mediante las técnicas de imagen básicas. Por ello, hasta que no se ha tenido acceso a las técnicas de imagen avanzadas, como la tomografía computerizada o la resonancia magnética, el diagnóstico se ha basado en el cuadro clínico, en las pruebas de estimulación/inhibición hormonales y en los resultados de la ecografía abdominal. Actualmente estas técnicas avanzadas de imagen son asequibles y ayudan a diferenciar los adenomas hipofisarios de tamaño más pequeño (microadenomas) de los de mayor tamaño (macroadenomas), hecho importante para predecir la evolución y la tasa de supervivencia, pues el control de la enfermedad en general es más fácil y con una supervivencia más elevada en el caso de los microadenomas. Para este trabajo se ha

empleado un equipo de resonancia magnética de alto campo, 3 teslas, por la mayor resolución espacial y por tanto con mayor precisión para diferenciar los tejidos tumorales de las estructuras circundantes, de ayuda tanto para el diagnóstico, como para la planificación del tratamiento posterior de manera más precisa.

El tratamiento ideal de toda enfermedad es eliminar la etiología, en este caso sería la extirpación del tumor hipofisario, mediante una hipofisectomía transesfenoidal. Esta técnica aún no está ampliamente extendida por lo que no es accesible de manera rutinaria. La hipofisectomía da lugar a un descenso rápido y eficaz de los niveles de cortisol, controlando la sintomatología e incrementando la supervivencia de los animales, consiguiendo su remisión en un 86% de los perros inmediatamente tras la cirugía y del 67% a largo plazo, mostrando una tasa de recidivas del 23% aproximadamente. Con esta técnica se alcanza una supervivencia de unos 12-16 meses en los macroadenomas y superior a los 3 años en los microadenomas.

La alternativa a la hipofisectomía es la radioterapia hipofisaria. Se trata de una técnica no invasiva cuyo principal objetivo a corto plazo es frenar el crecimiento tumoral, a medio plazo conseguir el control de la hipersecreción hormonal y a largo plazo la disminución del tamaño del mismo. La tasa de supervivencia alcanzada mediante radioterapia convencional (fraccionada) es buena, con mayor tasa de recidivas en los macroadenomas que en los microadenomas, mostrando un buen control de la sintomatología neurológica a corto plazo. Empleando radioterapia holocraneal la supervivencia media de los perros con HAC varía desde 147 días a los 365-760 días, según los distintos autores. En los macroadenomas tratados con LINAC esta supervivencia se encuentra en 668 días. Sin embargo, la mayoría de los centros veterinarios ofrecen radioterapia holocraneal fraccionada, que conlleva múltiples sesiones con anestesia en cada una de ellas realizadas a diario o bien en días alternos.

En esta Tesis Doctoral se realiza un tratamiento diferente, con radiación, la radiocirugía con Gamma Knife. Se efectúa mediante un equipo diseñado para aplicar en condiciones estereotáxicas una sola dosis terapéutica distribuida a través de 192 haces de irradiación situados alrededor de la cabeza y que confluyen en el tejido diana a tratar, previamente marcado con unas coordenadas mediante sistemas informáticos y con una

precisión submilimétrica. La ventaja que presenta frente a otras modalidades radioterápicas es que al aplicarse en una única sesión reduce a solo una las anestesias requeridas, siendo un procedimiento ambulatorio y por tanto no precisa hospitalización.

Se incluyeron 13 perros diagnosticados de HAC hipofisario a los que se les realizó una resonancia 3 teslas y que fueron sometidos al tratamiento con radiocirugía. La evolución clínica y hormonal fue diferente en los perros con macroadenoma hipofisario (> 10 mm) que en aquellos con microadenoma hipofisario. En los perros con microadenoma hipofisario el control hormonal de la enfermedad se obtuvo a medio plazo en 6 casos, siendo necesario administrar tratamiento médico con trilostano continuo en 1 caso. La supervivencia media en este grupo fue de  $1123 \pm 873,14$  días, con un rango entre 40 y 2798 días. La supervivencia observada en los perros con microadenoma hipofisario es incluso superior a la apreciada en perros con HAC en tratamiento mitotano (media  $985 \pm 57$  días) y con trilostano ( $1051 \pm 78$  días).

En los perros con macroadenoma hipofisario la supervivencia media fue de  $375 \pm 232,14$  días, con un rango entre 181 y 751 días. En cuanto a los perros con macroadenoma hipofisario, en el presente estudio se ha incrementado notablemente su esperanza de vida si bien en la mayoría de los casos (4/5) fue necesario mantener un tratamiento farmacológico coadyuvante durante un tiempo, aunque con una dosis el 50% inferior a la previamente pautada para controlar la sintomatología. Solo uno de esos casos consiguió abandonar dicho tratamiento 15 meses después de realizar el procedimiento.

Los efectos secundarios a corto, medio y largo plazos fueron escasos. Ninguno de los animales presentó lesiones en la piel de la cabeza causada por la irradiación y solo dos pacientes mostraron un retraso en la cicatrización de las heridas provocadas por los tornillos que sujetan el marco de estereotaxia a la cabeza. A largo plazo solo un perro desarrolló hipotiroidismo, por lo que necesitó suplemento con tiroxina. Solo un perro diagnosticado de macroadenoma murió a los 13 meses del procedimiento debido a radionecrosis.

En base a los resultados obtenidos la radiocirugía con Gamma Knife se presenta como una esperanza de futuro y un método bastante seguro, no invasivo y efectivo para el tratamiento del HAC canino.





# Summary

---



## SUMMARY

Spontaneous hyperadrenocorticism (HAC) is one of the most frequent endocrinopathy in dogs. Its incidence is about 1-2/1000 dogs per year. 80-85% is an HAC pituitary dependent due to an excess of adrenocorticotroph (ACTH) hormone secretion by a pituitary adenoma. In 15-20% of the cases the etiology is an adrenal tumor (adenoma or carcinoma), that produce an excess of glucocorticoids, and then is called adrenal HAC. Few cases have an ectopic origin.

In the review of this PhD thesis is given an overview of the canine pituitary anatomy, as well of the regulation and synthesis of the pituitary and adrenal hormones which are involved in the HAC development. It describes the disease, clinical signs and symptoms, the diagnostic methods and the pharmacological, surgical and radiotherapeutic options.

In dogs, determination of HAC etiology, pituitary dependent or adrenal, routinely it is not doing by imaging diagnostic techniques due the adenoma is intracranial, in the pituitary *sella*, and it's difficult to see in normal medical images. Nowadays which the advanced diagnostic image techniques, as the CT and MRI, more reachable, the diagnosis it is not only based in the clinical panel, or hormone stimulation/inhibition tests and the ultrasound studies. Now these new tools help us to differentiate the little pituitary adenomas (microadenomas) from the greatest (macroadenomas). It has value to predict the evolution and the survival rate, because the control of the disease is easier and with a longer survival for microadenomas. With this propose this work has employed an MRI equipment of high magnetic field (3Teslas), to obtain a better spatial resolution and then an optimal differentiation between tumor tissue and the structures surround it. The imaging findings are useful for the diagnostic and to plan more precisely the treatment.

The goal in the treatment of every disease is to eliminate the etiology. And thus, in the case of a pituitary tumor, the first treatment option it would be the

## *Summary*

surgical removal doing a transesphenoidal hypophysectomy. This surgical method is not routinely in all veterinary facilities and therefore is not thoroughly available. Hypophysectomy achieve a rapid low down of the cortisol levels, controlling the clinical signs and increasing the survival. The remission is achieved in the 86% of the dogs immediately after surgery and in a long term in a 67%, with 23% recidive rate approximately. The survival rate is as long as 12-16 month in macroadenomas and longer than 3 years in microadenomas.

Another alternative to surgical remove is the radiotherapy. It's a noninvasive method with standard goal of stopping neoplastic growth in a short period of time, to accomplish the hypersecretion hormone control in a midterm and finally the reduction of tumor size in a long term. The survival in the conventional fractioned radiotherapy is good, but with more recidives macroadenomas than microadenomas. It takes a good control of neurologic symptoms in a short period of time. Using holocranial radiotherapy survival varies from 147 days to 365-760 days, considering different authors. Macroadenomas treated with LINAC lived about 668 days. Nevertheless, most of the veterinary facilities offer fractionated radiotherapy which implies multiple sessions, with anesthesia in every one of them, applied diary or every two days.

This PhD thesis used as treatment the radiosurgery with Gamma Knife. The equipment specially designed to aply in stereotaxic conditions a single dose distributed from 192 radiation beams, settled surrounding the head, that converge in the target tissue to treat. This target is previously marked by coordinates using a computing program with a submilimetric accuracy. The advantage among other radiotherapeutic modalities is that it takes one dose in one session, reducing the anesthetics required and don't need hospitalization.

13 dogs, pituitary dependent HAC diagnosed, were included. All were in a 3T MRI studied and went into the radiosurgery procedure. Clinical and hormonal evolution was different in macroadenoma diagnosed dogs (> 10 mm) than in the microadenoma diagnosed ones. In the latter the hormonal control was achieve in a midterm in 5 cases, and in 1 microadenoma and all macroadenomas was necessary to administrate adjuvant pharmacological treatment, trilostane.

Medium survival time for microadenomas group was  $1123 \pm 873.14$  days, in range from 40 to 2798 days. Survival rate in dogs diagnosed as pituitary microadenoma

was even longer than survival rate in those treated with mitotane (media  $985 \pm 57$  days) and with trilostane ( $1051 \pm 78$  days).

Survival of macroadenoma diagnosed dogs was  $375 \pm 232,14$  days, in a range of 181 y 751 days. These dogs increased their life expectancy notably, nevertheless most of them (4/5) required adjuvant pharmacological treatment to control clinical signs, but with a dose 50% less than previous to radiosurgery. Only one dog could withdrawn the trilostane after 15 months after Gamma knife surgery.

Short time, midterm and a long term secondary effects were few. None of them showed lesions in the head skin due to irradiation, but two patients had a retarded cicatrization of the wounds resulting from tighten the stereotactic frame screws to their heads. One of them develop hipotiroidism, an expectable long term alteration, so the dog needed treatment supplement with tiroxine. Only one with macroadenoma died because radionecrosis.

Showing these results the Gamma Knife radiosurgery is presented as a hope for the future and a quite safe, non invasive and effective procedure to treat the canine pituitary dependent HAC.



# Lista de abreviaturas

---





## LISTA DE ABREVIATURAS

**ACTH:** Hormona adrenocorticotropa  
**ADH:** Hormona antidiurética- vasopresina  
**ADN:** Ácido desoxirribonucleico  
**AP:** Anteroposterior  
**ALD:** Aldosterona  
**ALT:** Alanina aminotransferasa  
**AVP:** Hormona antidiurética  
**BUN:** Nitrógeno ureico sanguíneo  
**CLIP:** Péptido de la parte intermedia similar a la corticotropina  
**CP:C:** Cociente proteína: creatinina  
**cPLI:** Lipasa pancreática canina  
**CRH:** Hormona estimulante de la corticotropina  
**DE:** Desviación estándar  
**DHEA:** Dihidroepiandrosterona  
**DV:** Dorso ventral  
**ELISA:** Acrónimo en inglés de Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay  
**EPI:** Extremidad posterior izquierda  
**FA:** Fosfatasa alcalina  
**FSE:** Fast espín eco (secuencia de resonancia magnética)  
**FSH:** Hormona estimulante de los folículos  
**GFR:** Tasa de filtración glomerular  
**GK:** Gamma knife  
**Gy:** Gray  
**HA:** Hipófisis anterior  
**HAC:** Hiperadrenocorticismismo canino  
**HACA:** Hiperadrenocorticismismo canino de origen adrenal  
**HACH:** Hiperadrenocorticismismo canino de origen hipofisario  
**HCV:** Hospital clínico veterinario  
**HHA:** Hipotálamo hipófisis adrenal  
**ICC:** Insuficiencia cardíaca congestiva  
**Ilβ:** Interleucina β  
**IR:** Insuficiencia renal  
**KeV:** kiloelectrón voltio  
**LL:** Latero lateral  
**LA:** Lóbulo anterior  
**LET:** Transferencia de energía lineal de un haz  
**LGP:** Leksell gamma plan®  
**LH:** Hormona luteinizante  
**LINAC:** Acelerador lineal  
**MeV:** mega electrón voltio  
**MV:** Megavoltio  
**NH:** Neurohipófisis  
**P/B:** Índice hipófisis/cerebro

**PAS:** Ácido periódico de Schiff  
**PC2:** Prohormona convertasa 2  
**PD/PU:** Polidipsia/poliuria  
**PI:** Parte intermedia hipofisaria  
**POMC:** Proopiomelanocortina  
**Prl:** Prolactina  
**PU:C:** Proteína urinaria:creatinina  
**QCS:** Queratoconjuntivitis seca  
**RAS:** Sistema de activación reticular  
**SRAA:** Sistema renina angiotensina aldosterona  
**RC:** Radiocirugía  
**RCGK:** Radiocirugía con Gamma Knife  
**RG:** Receptor de glucocorticoides  
**RIA:** Radio inmuno análisis  
**RM:** Resonancia magnética  
**RMC:** Receptor de mineralocorticoides  
**RT:** Radioterapia  
**SALP:** isoenzima de la fosfatasa alcalina inducida por esteroides  
**SNC:** Sistema nervioso central  
**SPGR:** Spoiled gradient recalled (secuencia de resonancia magnética)  
**TC:** Tomografía computerizada  
**TEP:** Tromboembolismo pulmonar  
**UCM:** Universidad Complutense de Madrid  
**ZF:** Zona fascicular  
**ZG:** Zona glomerulosa  
**ZR:** Zona radiada  
 **$\alpha$ MSH:** Hormona melanocorticotropa  $\alpha$   
**3DT1:** Secuencia volumétrica potenciada en T1 (secuencia de resonancia magnética)  
**3 $\beta$ HSD:** 3 $\beta$  hidroxiesteroide deshidrogenasa

# Introducción y objetivos

---



## **I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**

La incidencia del hiperadrenocorticismismo canino (HAC) se estima en un 1-2/1000 de los perros y se considera una de las endocrinopatías más frecuentes en estos animales (de Bruin y col. 2009). Puede tener su origen en la hipófisis, como sucede en el 75% de los casos debido a un adenoma productor de ACTH que conduce a una hiperproducción de cortisol por su acción estimulante sobre las glándulas adrenales. En el 15-20% de los casos restantes está causado por un adenoma o adenocarcinoma suprarrenal que induce la liberación de elevadas cantidades de cortisol (Felman y Nelson 2015). Hay un pequeño porcentaje cuyo origen es ectópico, relacionado con la presencia de tumores en el sistema digestivo (Galac y col. 2005). Suele presentarse en perros con edades superiores a los 7-9 años, con un curso lento y una manifestación de síntomas de evolución indolente e insidiosa. (Feldman y Nelson 2015).

El diagnóstico se establece en base a la sintomatología, la exploración clínica y las pruebas analíticas sanguíneas, empleando pruebas de determinación de hormonas en orina (cociente cortisol: creatinina en orina) y/o de estimulación/inhibición hormonal (Melián y col. 2015). No obstante la tomografía computerizada (TC) y la resonancia magnética (RM) han demostrado ser herramientas muy útiles en el diagnóstico por imagen para discriminar entre microadenomas y macroadenomas hipofisarios (Meij y col. 1997; Taoda y col. 2010), dato importante pues la evolución clínica es sensiblemente diferente entre ambos, ya que los macroadenomas pueden asociarse con sintomatología neurológica relacionada fundamentalmente con el diencefalo (Duesberg y col. 1995; Pollard y col. 2009). Las ventajas de la RM frente a la TC son su capacidad para diferenciar los tejidos neoplásicos de las estructuras circundantes y la ausencia de artefactos causados por el grueso cráneo canino. Esta capacidad aumenta al incrementar el campo magnético, por lo que en este trabajo se ha optado por realizar el estudio con un equipo de resonancia magnética de 3 Teslas, que nos ha proporcionado una

calidad de imágenes adecuadas para poder diferenciar entre ambos tipos tumorales. Además ha permitido visualizar el trayecto de las vías ópticas, dato necesario para planificar el tratamiento radioquirúrgico que se realizaría posteriormente.

El objeto de este trabajo se centra en el HAC de origen hipofisario. El tratamiento habitual de esta patología es farmacológico, con mitotano o trilostano. A lo largo de la historia se han empleado distintos medicamentos, pero actualmente debido a su baja toxicidad el más extendido es el trilostano (Feldman y Nelson 2015). No cura la enfermedad pero permite un control adecuado de la sintomatología, permitiendo alcanzar una supervivencia de  $1051 \pm 78$  días (Arenas, 2011). Otro fármaco ampliamente extendido es el mitotano. Como el anterior solo sirve para mitigar la sintomatología mientras el tumor sigue progresando. La supervivencia alcanzada con este medicamento está en unos  $985 \pm 57$  días (Arenas 2011). Sin embargo, ambos fármacos actúan solo como un paliativo sintomático.

El tratamiento ideal, principalmente en el caso de los adenomas de mayor tamaño (macroadenomas), pasaría por realizar una cirugía de la hipófisis y extirpar el tejido neoplásico con el objeto de obtener un control sobre la hipersecreción hormonal, que en este caso es inmediato tras la cirugía (Hanson y col. 2005). No obstante, ésta es una técnica que realizan rutinariamente solo en algunos hospitales universitarios fuera de nuestras fronteras.

La siguiente posibilidad para realizar un tratamiento etiológico es la radioterapia, también poco extendida debido al coste asociado al mantenimiento de estas instalaciones. Con este método no se consigue el control inmediatamente, tardando del orden de meses a años (Theon y Feldman 1998; Brearly y col. 1999; Mayer y Treouil 2007); pero a corto plazo frena el crecimiento tumoral, consiguiendo la remisión o control de la secreción hormonal a corto-medio plazo en unos meses (Goosens y col. 1998), y en muchos casos la reducción del tamaño neoplásico una vez superado el año tras su administración (Goosens y col. 1998; Kent y col.

2007). La principal desventaja, además de la escasez de lugares donde es accesible, es que necesita fraccionamiento de la dosis que se aplica en sesiones de 3-5 semanales durante al menos 5 semanas con las consiguientes anestесias repetidas en los pacientes. Por otro lado, las dosis repetidas sobre las mismas zonas de la cabeza producen efectos secundarios a corto-medio y largo plazo, que van desde eritemas, depilaciones y leucotriquia, a otitis y faringitis, o incluso radionecrosis, como efecto a largo plazo, provocando sordera, ceguera o muerte (Brearly y col. 1997).

El método propuesto en esta Tesis Doctoral es la radiocirugía mediante Gamma Knife aplicando una sola dosis de radiación, lo que disminuye las anestесias requeridas a una sola. Con esta técnica las estructuras circundantes reciben una dosis mínima no lesiva, evitándose en gran medida los efectos indeseados de la radioterapia.

Así, los objetivos de este estudio han sido:

1. Evaluar la capacidad diagnóstica de la técnica de resonancia magnética 3T en perros con HAC.
2. Conocer la eficacia del tratamiento con gamma knife (GK) en perros con HAC hipofisario.
3. Conocer la evolución de las hormonas hipofisarias tras el tratamiento con GK.
4. Analizar la supervivencia y los factores asociados a la misma de perros con HAC tratados con GK.
5. Conocer los efectos sobre las hipófisis y las glándulas adrenales una vez realizada la necropsia.





# Revisión bibliográfica

---



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.- Glándula hipofisaria

#### 1.1. Anatomía

La hipófisis es una glándula endocrina que forma parte del eje hipotálamo-hipofisario, regulador del sistema endocrino. De pequeño tamaño, aunque variable debido a las distintas dimensiones de las diferentes razas caninas (Hullinger 1993), se localiza sobre la base del cráneo, alojada en la silla turca del hueso esfenoides, sobre el seno esfenoidal, que constituye una base ósea que define su límite anatómico inferior. Procede de la línea media ventral del diencefalo, limitando dorsalmente con él y con el hipotálamo con el que se relaciona a través del tallo hipofisario. En situación anterior y ligeramente superior a la glándula se sitúa el quiasma óptico, del que parten las cintillas ópticas con las que la hipófisis se relaciona lateralmente, además de con los senos cavernosos por los que atraviesan las arterias carótidas internas anteriores y algunos pares craneales: oculomotor ó III par, troclear (IV), abducens (VI) y las ramas oftálmicas y maxilar del nervio trigémino (V). (Snell 2001)

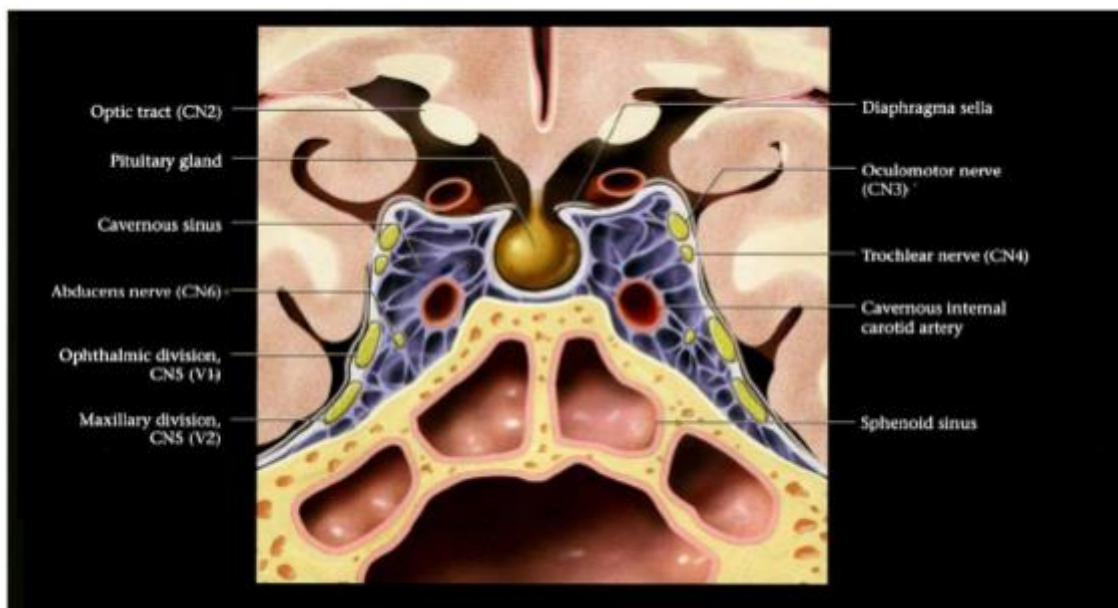


Figura 1. Figura tomada del libro: *Diagnostic imaging: Brain* (Osborn).

La glándula está constituida por dos regiones estructural y funcionalmente diferentes: la *adenohipófisis*, (AH) situada inferoanteriormente con un componente principalmente glandular, y la *neurohipófisis* (NH), en localización dorsocaudal y formada por axones y estroma de sostén que provienen del hipotálamo.

Desde el tallo hipofisario, que mantiene la hipófisis unida al hipotálamo, parte uno de los componentes de la AH: la *pars tuberalis* o prolongación de células hipofisarias que rodean la porción inferior del tallo. Bajo este segmento y como continuación del mismo se localiza el área distal de la AH: *pars distalis adenohipofisaria* o *lóbulo anterior hipofisario (LA)* o *pars glandularis*. La porción glandular es la que conforma la mayor parte de la AH y permanece separada de la NH mediante su región más interna, la *pars intermedia* (PI), nombre que hace referencia a su asiento entre ambos componentes glandulares.

La neurohipófisis consta de distintas partes: la *eminencia media* o *infundíbulo*, que procede de fibras nerviosas que se proyectan desde los núcleos hipotálamicos del que arranca un tallo cilíndrico que la suspende del hipotálamo, denominado *tallo hipofisario* o *infundibular*. En muchos perros el tercer ventrículo se extiende hacia el infundíbulo con una invaginación denominada *receso* de la NH. El tallo se continúa con la *pars proximalis* o *proximal* de la NH. La *pars proximalis* se prolonga dando lugar a la *pars distalis*, principal constituyente de esta región glandular. La *pars distalis* a su vez está en contacto directo con la *pars intermedia* (Young 2011).

La *pars intermedia* es relativamente avascular y se encuentra regulada y controlada por fibras nerviosas que proceden del hipotálamo, que en su mayoría nacen en los núcleos hipotalámicos (Kemppainen y Sartin 1987; Kemppainen y col. 1989; Rijnberk, 1996). La AH además muestra un manguito o collar que se extiende alrededor de la *pars proximalis* de la NH envolviendo parte de la *eminencia media*, este manguito se conoce como la *pars infundibularis* adenohipofisaria (Hullinger 1993).

Toda la glándula está recubierta por duramadre que tapiza la fosa hipofisaria, apreciándose además una reflexión sobre la silla turca que recubre superiormente la hipófisis, denominada *diafragma selar* (Köning y Liebich, 2009), muy poco desarrollado en los perros (Kippenes y col. 2001), que posee un orificio para permitir el paso del tallo

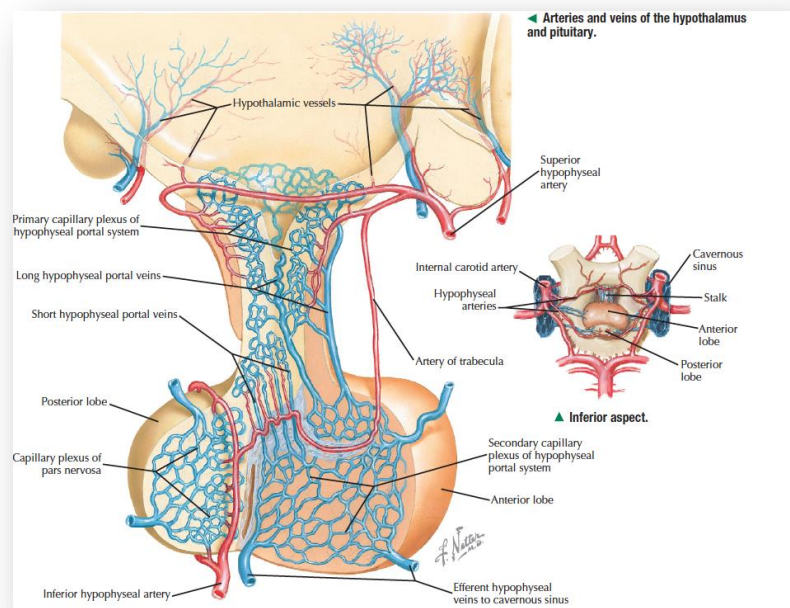
hipofisario. Actúa protegiendo a la glándula de la presión que provoca el líquido cefalorraquídeo.

**La vascularización** de la hipófisis procede de arterias hipofisarias bilaterales, superior e inferior, ramas de las carótidas internas, existiendo un sistema porta-hipofisario extremadamente complejo.

De la carótida interna, en su trayecto intracraneal, parten las arterias hipofisarias superiores. Estas se dividen en dos ramas, anterior y posterior, y cada una de ellas se anastomosa con su homónima del lado contralateral formando un anillo alrededor del tallo hipofisario. De la porción anterior de la arteria hipofisaria nacen las arterias trabeculares que descienden sobre la superficie del lóbulo anterior aportando un 90% del suministro sanguíneo de la AH (Young 2011).

De ambas arterias carótidas internas en su trayecto intracavernoso nace el tronco meningohipofisario, del que a su vez se origina la arteria hipofisaria inferior que nutre la NH y resto de la AH (Young 2011).

Existe un extenso drenaje venoso, entre los que se incluyen la vena oftálmica superior, las venas cerebrales medias e inferiores y el seno esfenoidal.



**Figura 2.** Imagen tomada del libro: *En The Netter Collection of Medical Illustrations.*

La **inervación** de la adenohipófisis es indirecta, salvo por la presencia de fibras nerviosas simpáticas asociadas a los capilares que acceden a la glándula. Aunque es importante no posee un papel directo en la secreción hormonal hipofisaria al encontrarse regulada por otros factores estimulantes hipotalámicos. La neurohipófisis está constituida por axones neuronales y fibras nerviosas procedentes del hipotálamo que transportan hacia la glándula las hormonas oxitocina y vasopresina, así como otros péptidos hipotalámicos encargados de la regulación de las funciones adenohipofisarias. (Young 2011)

## 1.2. Histología

Histológicamente la AH está constituida por acinis glandulares dispuestos en cordones, que en función de su afinidad por las tinciones histológicas incluyen células acidófilas, basófilas y neutrófilas. Por otro lado, una clasificación más actual mediante técnicas inmunocitoquímicas permite identificar 5 tipos celulares bien diferenciados según su producción hormonal. Las **células somatotrópicas** que segregan la hormona somatotropa u hormona del crecimiento (GH), las **células lactotrópicas** que producen la hormona prolactina (PRL), las **células tirotrópicas secretoras de** la hormona tirotrópica (TSH), las **células gonadotrópicas** que originan las gonadotropinas, la hormona luteínica (LH) y la hormona estimulante de los folículos (FSH), y las **células corticotrópicas** que secretan la hormona adrenocorticotropa (ACTH) (Bloom y Fawcett 1994).

La *pars intermedia*, situada como se ha mencionado entre la AH y la NH, contiene tres tipos celulares: células cromóforas (productoras de ACTH en baja cantidad,  $\alpha$ -MSH y  $\beta$  endorfinas), basófilas y células poligonales. Todas ellas comparten el espacio con estructuras quísticas llenas de coloide y que son derivadas de la bolsa de Rathke. (Ovalle y Nahirmey 2013)

La *pars distalis* de la NH la conforman células denominadas pituitocitos y fibras neurosecretoras amielínicas que derivan de las neuronas del hipotálamo (Ovalle y Nahirmey 2013).

## 2.- Glándulas adrenales

### 2.1. Anatomía e histología

Las glándulas adrenales son órganos pares que se localizan en situación craneomedial con respecto a los riñones.

Están constituidas por una corteza y una médula, dos tejidos funcional y estructuralmente diferentes debido a su distinto origen embriológico. Ambos componentes se encuentran recubiertos por la capsula adrenal.

La *corteza adrenal* está formada por tres áreas diferentes:

La región más externa es la *zona arcuata o zona glomerulosa* (ZG). Está conformada por células que forman arcos y anidan en un estroma que proporciona la superficie interna de la cápsula (Ovalle y Nahirmey 2013).

La zona cortical, situada bajo la arcuata, es la *zona fasciculada* (ZF), más gruesa que la anterior. La mayor parte de la ZF está constituida por células anastomosadas que radian hacia la periferia (Elias and Pauly 1956).

La capa cortical más profunda se apoya sobre todas las caras del ondulante contorno medular. El parénquima de la zona interna está dispuesto en un orden relativamente aleatorio y con una red laxa que se denomina *zona reticular* (ZR).

La *médula* está separada de la corteza por una delicada red o retícula de tejido colágeno conjuntivo laxo que forma el septo corticomedular (Bloom y Fawcett 1994).

## 3.- Eje hipotálamo-hipófisis-adrenales

La secreción de glucocorticoides está regida por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) que presenta un complejo grupo de interacciones con influencias directas y retroalimentación entre el hipotálamo, la hipófisis y la glándula adrenal. La principal hormona hipofisaria que regula la secreción adrenal es la ACTH.

El lóbulo anterior de la AH está regulado por el hipotálamo y el sistema nervioso central vía neurotransmisores que provocan la liberación de hormonas hipofisocorticotrópicas, como la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y la



arginina-vasopresina o antidiuretica (AVP- ADH), en los capilares del sistema porta del eje hipotálamo-hipofisario. (Ovalle y Nahirmey 2013)

En el control neuroendocrino de la secreción de la ACTH pueden distinguirse los siguientes mecanismos: secreción episódica, respuesta al estrés, inhibición del cortisol mediante retroalimentación y factores inmunológicos (Galac 2010).

En el hombre y en la especie canina tanto la CRH como la ACTH se liberan de manera pulsátil, de forma que los niveles de cortisol fluctúan a lo largo del día. En el hombre existe un ritmo circadiano que muestra un máximo de liberación durante las primeras horas de la mañana, ritmo que no se ha podido comprobar en el perro (Kooistra y col. 1997; Feldman y Nelson 2015; Melián y col. 2010). El sistema nervioso central regula los eventos relacionados con la liberación de ACTH, tanto en número como en magnitud, y en los perros generalmente varían de 6 a 12 en un periodo de 24 horas (Kooistra y col. 1997).

Las respuestas al estrés se originan en el sistema nervioso central e incrementan la liberación de CRH y AVP. La ACTH y el cortisol se secretan a los pocos minutos de comenzar el episodio de estrés (Devitt y col. 2005). Si empleamos la concentración urinaria de cortisol como medida integral de la producción de cortisol, el estrés que sufre un paciente al ser sometido a un procedimiento veterinario se refleja en el cociente cortisol/ creatinina de la orina que aparecerá elevado (Van Vonderen y col. 1998).

Otro de los grandes reguladores de la liberación de ACTH y del cortisol es la inhibición por retroalimentación. Esta acción inhibidora de los glucocorticoides es ejercida en varias localizaciones de los que dos están inequívocamente identificadas: neuronas del hipotálamo que producen CRH y AVP y las células corticotropas de la AH. Los glucocorticoides ejercen su acción de retroalimentación al menos a través de dos moléculas receptoras estructuralmente diferentes: El receptor preferente de los mineralocorticoides (RMC) y el receptor preferente de los glucocorticoides (RG). El RMC posee una gran afinidad por el cortisol, 20 veces más que el RG. Hay evidencia de que la inhibición basal de la liberación de ACTH debida a los glucocorticoides está mediada por la ocupación de los RMC. El cerebro canino y la hipófisis contienen unos niveles muy altos

de RMC, con mayor concentración en el complejo del septo hipocampal y la AH (Reul y col. 1990). El RG está distribuido por el cerebro, pero la concentración en el LA es dos veces superior a cualquier otra región. Este receptor está implicado en el efecto de retroalimentación de la liberación de glucocorticoides como resultado de la secreción de ACTH inducida por el estrés.

Cualquier ataque al sistema inmune invariablemente activa el eje HHA. Esta respuesta está mediada por citoquinas proinflamatorias, un grupo de polipéptidos que se liberan desde las colonias de células inmunitarias activadas. Particularmente la interleucina 6 (IL-6), entre otras citoquinas, activa el HHA (Dunn 2000). Las acciones reguladoras de las citoquinas se ejercen predominantemente a nivel del hipotálamo ya que la CRH es el principal mediador de la respuesta hipotalámica. La activación citoquino-mediada del eje HHA está sujeta también a una retroalimentación reguladora relacionada con los glucocorticoides, que no solo impiden la respuesta activadora del hipotálamo provocada por las citoquinas sino que también bloquean la producción de estas e inhiben a los macrófagos. De manera que la comunicación entre el sistema neuroendocrino y el sistema inmune es bidireccional (John y Buckingham 2003).

### 3.1. Hormona adrenocorticotropa (ACTH)

La ACTH es un polipéptido de 39 aminoácidos cuya secuencia varía según las especies, siendo la diferencia entre la humana y la canina de un solo aminoácido (Reijnberk y Kooistra 2010).

La ACTH se sintetiza en las células cromóforas de la AH a partir de un precursor que es la proopiomelanocortina (POMC) en respuesta a la estimulación de la hormona estimulante de la corticotropina (CRH). El precursor POMC también da lugar a opiáceos endógenos como betaendorfinas y metaencefalinas, lipotropina (LPH) y hormona estimulante de los melanocitos (MSH) (Lorenzo 2008).

La ACTH liberada en la circulación sistémica procede fundamentalmente de la *pars distalis*, principalmente de las células cromóforas, aunque la *pars intermedia* puede contribuir en la concentración de ACTH sistémica en los perros (Kooistra y col. 1997). Esta hormona provoca la secreción de glucocorticoides, principalmente cortisol, en la corteza adrenal, ejerciendo este un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis al

inhibir la producción y secreción de ACTH de la *pars distalis*, y sobre el hipotálamo inhibiendo la liberación de CRH (Feldman y Nelson 2015). El cortisol no parece tener efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de ACTH de las células B de la *pars intermedia*, aunque sí puede existir una cierta estimulación de dichas células por parte de la CRH (Kemppainen y col. 1989).

La ACTH estimula dos de las tres zonas de la corteza suprarrenal: la zona fascicular donde se secretan los glucocorticoides, cortisol y corticosterona, y la zona reticular que produce andrógenos como la dehidroepiandrosterona (DHEA) y la androstenodiona (Reijnberk y Kooistra 2010).

En síntesis, la ACTH se fija a los receptores de membrana de las células de la corteza adrenal activando a la adenilciclase, lo que ocasiona un aumento de la concentración intracelular de AMPc que a su vez activa las enzimas P450<sub>scc</sub> responsables de la transformación del colesterol en pregnenolona, precursor de los glucocorticoides. La ACTH también estimula, entre otras proteínas necesarias para la esteroidogénesis, los receptores de la lipoproteína LDL portadora de ésteres que liberan colesterol por la acción de las esterasas (Barret 2005; Aron 2001).

La secreción de ACTH también se incrementa en respuesta a la alimentación, la tensión física y emocional, el dolor, los traumatismos, la hipoglucemia, la hipoxia, el calor, las intervenciones quirúrgicas y secundariamente a los pirógenos (Aron 2001; Melián y col. 2010)

### 3.2. Hormona alpha melanotropa ( $\alpha$ -MSH)

La hormona estimulante de los melanocitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH), secretada fundamentalmente en la *pars intermedia* hipofisaria, es un tridecapéptido N-acetilado. Procede del precursor POMC en respuesta a la acción proteolítica sobre la ACTH de la prohormona convertasa 2 (PC2), principalmente en la *pars intermedia*, dando como resultado  $\alpha$ -MSH y el péptido del lóbulo intermedio similar a la corticotropina (CLIP) (Raffin-Sanson 2003; Tanaka 2003). Posee la misma secuencia aminoacídica en todos los mamíferos (Catania 2010).

Su principal función es la estimulación de la melanogénesis, aunque posee otras funciones relacionadas con el apetito y la homeostasis energética ayudando a regular la cantidad de grasa en el organismo. Igualmente reduce los niveles de insulina (Fehm y col. 2001), actúa sobre la actividad sexual, protege frente a isquemias e interviene en la reperusión de las lesiones. Se relaciona con la mejora de la memoria y con la actividad del sistema inmune, actuando como inmunomodulador, suprimiendo las endotoxinas y citoquinas proinflamatorias (IL1 $\beta$  y TNF $\alpha$ ) mediante la unión con los receptores de las melanocortinas presentes en los macrófagos, las células dendríticas y los neutrófilos, controlando la liberación periférica de citoquinas, lo que reduce la intensidad de la respuesta inflamatoria. En el humor acuoso ocular regula la inflamación y en el cerebro sobre el dolor, facilitando además la analgesia. Controla la producción hipotalámica de la melatonina y las endorfinas, favoreciendo un descanso adecuado y la disminución en la percepción del dolor (Lipton y col. 2000; Catania 2010).

Estas funciones las lleva a cabo actuando como un agonista no selectivo completo de los receptores MC<sub>1</sub>, MC<sub>3</sub>, MC<sub>4</sub> y MC<sub>5</sub>, excepto del MC<sub>2</sub> que es exclusivo de la ACTH. (Catania 2010)

### **3.3. Hormonas de la corteza adrenal**

La corteza adrenal es la productora más importante de esteroides del organismo. La ZG adrenal canina secreta mineralocorticoides (principalmente aldosterona, ALD) y es deficiente en la actividad 17 $\alpha$  hidroxilasa (CYP17), siendo esto último lo que la hace incapaz de producir cortisol o andrógenos. La ZF y la ZR funcionan como una unidad secretora de glucocorticoides (principalmente cortisol) y de pequeñas cantidades de esteroides sexuales (estrógenos, progestágenos y andrógenos). La médula adrenal secreta catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) (O'Brien 2001).

#### **Glucocorticoides**

Derivados del colesterol, junto con los mineralocorticoides y las hormonas sexuales, se sintetizan tras la acción de una cascada enzimática en la región fascicular de la corteza adrenal, siendo en perros el más importante el cortisol. Su actividad está

determinada por el grupo hidroxilo situado en su carbono 11. (Reijnberk y Kooistra 2010).

Sus acciones inciden principalmente sobre el metabolismo de los hidratos de carbono colaborando en el mantenimiento de los niveles de glucemia adecuados, favoreciendo la gluconeogénesis hepática, la lipólisis sobre el tejido graso y el catabolismo proteico muscular, con el fin de mantener un aporte de glucosa permanente en el cerebro y a los eritrocitos en situaciones de estrés y ayuno. Es antagonista de la insulina al inhibir la captación de glucosa en el músculo y en el tejido adiposo, bloqueando el efecto supresor de la insulina sobre la producción hepática de glucosa. Todas estas acciones conducen a estimular el apetito y la lipogénesis. Sus acciones reducen la osteogénesis, pueden interferir en la contractilidad muscular, intervienen en el mantenimiento de la presión arterial, en la homeostasis hídrica mediante la regulación del péptido natriurético atrial, induce el consumo de agua e inhibe la secreción de la hormona antidiurética (ADH). Posee incluso acciones sobre el sistema inmune reduciendo la respuesta inflamatoria y el dolor mediante la inhibición en la producción de citoquinas, interleucinas, leucotrienos y óxido nítrico, entre otros mediadores de la inflamación. (Reijnberk y Kooistra 2010)

### **Mineralocorticoides**

La aldosterona es el principal mineralocorticoide del organismo y su regulación depende del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) y del potasio. El SRAA mantiene el volumen sanguíneo constante a través de la retención de sodio inducido por la aldosterona durante los periodos de hipovolemia y la disminución de dicha retención cuando hay hipervolemia. El potasio regula directamente la secreción de aldosterona, independientemente del SRAA, de manera que la hiperpotasemia estimula la secreción de aldosterona mediante depolarización, mientras que la hipokaliemia inhibe la repolarización de las membranas de las células de la zona glomerulosa. La función principal de la aldosterona es el mantenimiento de la homeostasis. Además de estos dos factores reguladores la aldosterona también se ve influida por otros factores como la ACTH, los péptidos natriuréticos y una variedad de neurotransmisores. Todos ellos tienen

en común su capacidad para responder en situaciones de estrés. (Reijnberk y Kooistra 2010)

#### **4.- Hiperadrenocorticismismo canino**

El hiperadrenocorticismismo canino (HAC), o síndrome de Cushing, es una de las endocrinopatías más frecuentes en la clínica veterinaria, con una incidencia de aproximadamente 1-2/1000 perros/año (de Bruin y col. 2009).

##### **4.1. Etiología y tipos de hiperadrenocorticismismo canino**

El exceso de ACTH, que induce hipercortisolemia, causa la enfermedad conocida como hiperadrenocorticismismo o síndrome de Cushing de origen hipofisario (HACH). Este tipo de HAC está presente en el 80-85% de los casos. Si el exceso de cortisol proviene de la glándula adrenal se denomina hiperadrenocorticismismo o síndrome de Cushing de origen adrenal (HACA), que se observa en aproximadamente el 15-20% de los casos.

Por otro lado, se ha descrito un hiperadrenocorticismismo de origen ectópico, asociado a un síndrome paraneoplásico, en dos perros, ambos de raza pastor alemán, causado en uno de ellos por tumores neuroendocrinos en páncreas (Galac y col. 2005) y en el otro por un carcinoma hepático (Churcher 1999). Además, se ha referido un caso de hipercortisolismo inducido por la ingesta y causada por una alteración de la expresión en los receptores del polipéptido inhibidor gástrico (Galac y col. 2008).

Aunque es poco común, también se ha observado la coexistencia de tumores adrenales e hipofisarios en el mismo paciente (Greco y col. 1999), y la concomitancia de tumores hipofisario, adrenal y feocromocitoma (Thuróczy y col. 1998).

##### **4.2. Hiperadrenocorticismismo hipofisario**

###### **4.2.1. Tumores hipofisarios**

Los tumores hipofisarios se clasifican en no secretores (cuando no producen hormonas) y en secretores. Los tumores secretores se clasifican en corticotropos (productores de ACTH), somatotropos (productores de GH), prolactinomas (productores de PRL). Todos ellos pueden ser benignos, adenomas, o malignos, adenocarcinomas. Los adenomas corticotropos inducen hipercortisolemia y por tanto hiperadrenocorticismismo. Esta clasificación es similar a la que se aplica en medicina humana (tabla 1).

Además los tumores hipofisarios se clasifican en función de sus dimensiones en macroadenomas y microadenomas (Behrend y col. 2013). En el hombre los macroadenomas hipofisarios se definen como neoplasias con un tamaño superior a 10 mm. En el perro pueden diagnosticarse como tales aquellos superiores a esa medida o bien los que superan un cociente hipófisis/cerebro (índice P/B) superior a  $0,31 \times 10^{-2}$  (Kooistra y col. 1997; Behrend y col. 2013). La mayoría de los microadenomas no son visibles salvo en el estudio histológico, pudiendo incluso estar constituidos por un simple nido de células hiperproductoras de ACTH (Kippermann y col. 1992). En el momento del diagnóstico aproximadamente un 50% de los perros con HACH tienen un tumor menor de 3mm y el otro 50% presenta tumores de 3 a 12 mm (Bertoy y col. 1995). Otros autores, sin embargo, señalan que alrededor del 10-20% de los perros con HACH poseen un macroadenoma (Duesenberg y col. 1995), considerando como tales a tumores mayores de 10 mm. Estos últimos pueden llegar a comprimir las estructuras adyacentes y expandirse dorsalmente por encima de los límites de la silla turca hacia el hipotálamo. Al ser la silla turca canina menos profunda que la humana es muy infrecuente que se produzca la destrucción de sus paredes en los tumores expansivos (Kippenes y col. 2000).

Desde el punto de vista histológico las neoplasias hipofisarias son malignas en el 25% de los casos (Safarty y col. 1988), un 6% para Pollard y sus colaboradores (2009), correspondiendo a adenocarcinomas. La proporción de neoplasias benignas es el 75% restante (Safarty y col. 1988), no obstante estas pueden ser diferenciadas histológicamente en un 61% como adenomas y en el 33% restante como adenomas invasivos (Pollard y col. 2009). Los tumores a su vez en función de su tamaño pueden ser microadenomas (menores de 1 cm) o macroadenomas (medida superior o igual a 1 cm), y pueden ser no invasivos o invasivos, y aunque Kippenes refiere la rareza de la destrucción selar, los invasivos pueden llegar a provocar remodelación ósea (Feldman y Nelson, 2003; Pollard y col. 2010). Estas diferencias pueden establecerse en algunos casos en el estudio de RM o bien en la necropsia mediante el estudio histológico de los mismos.

Presentación clínica	Adenoma hipofisario
Adenomas secretores de ACTH	Adenoma corticotropo Adenocarcinoma
Secretores de PRL	Adenoma lactotrofo con gránulos dispersos  Adenoma lactotrofo granulado densamente
Secretores de GH	Adenoma somatotrofo granulado densamente  Adenoma somatotrofo con gránulos dispersos
Secretores de GH y PRL	Adenoma mixto de células GH y PRL  Adenoma mamosomatotrofo  Adenoma de células madre acidófilas
Secretores de TSH	Adenoma tirotrófico
Secretores de Gonadotropinas	Adenoma gonadotrofo
Adenomas no secretores	Adenoma acelular  Oncocitoma
Adenomas silentes	Adenoma silente corticotrofo (subtipos I y II)  Adenoma silente subtipo III
ACTH = hormona adrenocorticotropa; GH = hormona de crecimiento; PRL = prolactina; TSH = hormona estimulante del tiroides	

**TABLA 1.** Clasificación de los adenomas hipofisarios humanos por la OMS (2004). Tabla obtenida de Medscape.

En los perros son más comunes los adenomas de la *pars distalis*, aunque en algunos casos se han observado en la *pars intermedia*. Tanto en el perro como en el hombre producen un exceso de secreción de ACTH induciendo una hiperplasia bilateral de las glándulas adrenales con la consiguiente hipercortisolemia y ausencia de respuesta a la ACTH y al cortisol en situaciones de estrés, además de una alteración en la retroalimentación negativa que afecta tanto a los niveles de ACTH como a la producción de glucocorticoides. Igualmente se observa una escasa respuesta a la estimulación de la GH, TSH y de las gonadotropinas (Aron y col. 2001).

En raras ocasiones se han mencionado hiperplasias adenomatosas secundarias a una hiperestimulación subsiguiente a un exceso de CRH. (Peterson y col. 1982; Reijnberk y Kooistra 2003)

#### **4.2.2. Epidemiología del HACH.**

El HACH aparece en pacientes caninos de mediana edad y geriátricos (por encima de los 6 años), siendo el 75% de los perros con HAC mayores de 9 años. Raramente se



han observado en perros jóvenes, sin embargo se han descrito casos en perros menores de 7 años y se han relacionado con un comportamiento más invasivo (Pollard y col. 2010). Del 55 al 60% de los pacientes son hembras (Reusch y Felmand, 1991).

Las razas caninas más comúnmente afectadas son los caniches, Beagles, Schnauzer miniatura, Pastor alemán, Bóxer, Boston terrier (Felmand y Nelson, 2015), algunos autores incluyen además a los Teckel, Jack russel, Labrador, Staffordshire terrier y Yotkshire terrier (Gough y Thomas, 2004). Un dato interesante, y aún no explicado, es que se ha diagnosticado en aproximadamente el 75% de los perros con un peso menor de 20 kg (Reusch y Felmand 1991).

#### **4.3. Cuadro clínico del hiperadrenocorticismismo canino**

Este trabajo de Tesis Doctoral está enfocado en los perros con HACH. El cuadro clínico del HAC es secundario a los niveles excesivos de cortisol. Es de evolución lenta, de meses de duración e incluso años, por lo que algunos propietarios asocian los cambios que observan en sus perros a la edad. Por este motivo cuando se establece el diagnóstico clínico la enfermedad suele encontrarse avanzada.

La sintomatología más común es la presencia de polidipsia, poliuria y polifagia. Es común la existencia de distensión abdominal, alopecia endocrina (figura 1), pioderma (figura 2) e incluso calcinosis cutis (figura 3), jadeo, debilidad muscular, letargia y apatía. En la tabla 2 se resumen los síntomas más habituales del HAC en el perro.

La presencia de **polidipsia-poliuria** es el signo más frecuentemente asociado con la enfermedad y la principal razón de consulta por el propietario. Se observa en aproximadamente el 85% de los pacientes. En el perro la ingesta normal de agua se sitúa entre 40-60 ml/kg de peso al día; en algunos de los perros con HAC llega a superar hasta 10 veces esa cantidad. (Feldman y Nelson 2015)

Otro síntoma frecuente es la **polifagia**, que en algunos casos puede ser muy marcada, llegando a buscar en la basura o a ser agresivos para proteger su comida. Este signo se observa en más del 80% de los perros con HAC. La existencia de anorexia en perros con HAC es poco frecuente y suele ser debida a la presencia de macrotumores que

comprimen el hipotálamo o por la asociación de enfermedades concurrentes (fallo renal).

Los glucocorticoides provocan resistencia a la insulina y son hiperglucemiantes, lo que contribuye al aumento de apetito. En aproximadamente un 10% de los casos se diagnostica además una diabetes mellitus concomitante.

En el 80% de los pacientes se observa una **distensión abdominal**. Este incremento del perímetro abdominal es debido a distintos factores: por un lado al aumento de peso, a la redistribución de la grasa intraabdominal, a la debilidad muscular de la prensa abdominal por el hipercortisolismo y al incremento de tamaño tanto del hígado como de la vejiga. (Feldman y Nelson 2015)

Otros síntomas comúnmente observables son la **debilidad muscular y la letargia**. Son pacientes a los que les cuesta saltar, subir escaleras y muestran intolerancia al ejercicio. Por ello a los dueños estos signos les pasan desapercibidos o los asocian con la incapacidad debida a la edad. El causante de esta sintomatología es el catabolismo proteico que induce atrofia y debilidad muscular.

En casos extremos pueden llegar a mostrar úlceras de decúbito por la incapacidad para levantarse o mantenerse de pie.

Pueden mostrar lesiones músculo-esqueléticas, como rotura de ligamento cruzado anterior, luxación patelar o incluso se han descrito roturas musculares. (Feldman y Nelson 2015)

En el examen físico normalmente se trata de perros bien hidratados y estables, con buena coloración de membranas mucosas. Los hallazgos más comunes son **las alteraciones cutáneas**. El exceso de corticoides provoca una alteración en el ciclo de crecimiento del pelo y una atrofia de la dermis. Clínicamente se aprecia una progresiva alopecia endocrina, es decir, bilateral, simétrica y no pruriginosa, que afecta más comúnmente a los flancos, el periné y el abdomen. Es normal la atrofia del folículo piloso y del aparato pilosebáceo con acumulación de queratina (formación de comedones). (Melián y col. 2010)

Ocasionalmente se observa que una vez cortado el pelo este no crece o tarda demasiado en hacerlo, y cuando esto ocurre es frágil, quebradizo y fino.

Otros signos cutáneos son fragilidad cutánea, aumento de la susceptibilidad a las infecciones (pioderma), debido a la supresión del sistema inmune y al retraso en la curación de las heridas, depósitos de calcio en la dermis (calcinosis cutis), incluso osificación metaplásica cutánea. La ubicación habitual de la calcinosis es en la región temporal o en la línea media dorsal. No se conoce el mecanismo por el cual ocurre esta deposición mineral, pero están implicadas algunas fases de la transformación de los iones de calcio y fosfato en agregados cristalinos que se concentran en la matriz de colágeno y la elastina dérmica (Melián y col. 2010).



**Figura 4.** Alopecia endocrina. Muestra alopecia bilateral en los flancos.



**Figura 5.** *Pioderma bacteriana.*



**Figura 6.** *Calcinosis cutis*

Aunque algunos propietarios señalan la presencia de **obesidad**, lo que suele suceder es que hay una redistribución de la grasa corporal, de predominio abdominal y con obesidad troncal o centrípeta (figura 4). Algunos perros con HAC avanzado tienen una condición corporal inferior a la normal.



Figura 7. Obesidad

Con frecuencia hay **signos respiratorios** como jadeo y taquipnea. Ello es debido tanto al aumento de grasa en el tórax, que reduce la capacidad pulmonar, como por la debilidad de la musculatura respiratoria y el catabolismo muscular. Además, el incremento de la grasa intraabdominal y la hepatomegalia presionan el diafragma acrecentando el esfuerzo respiratorio.

En algunos casos, además, pueden existir calcificaciones intersticiales pulmonares, tromboembolismo pulmonar (crónico o agudo) y/o enfermedad intersticial pulmonar, colapso traqueal o insuficiencia cardíaca que agravan esta sintomatología.

El exceso de cortisol induce **atrofia testicular en machos y anestro en las hembras**. Los machos generalmente presentan hipoplasia testicular bilateral, con unas gónadas suaves y esponjosas, mientras que las hembras muestran anestro permanente. (Reijnberk y Kooistra 2010)

En una pequeña proporción de perros con HAC se evidencian **alteraciones neurológicas**. Algunos de ellos muestran miopatías, destacando entre ellas la pseudomiopatía, caracterizada por contracciones musculares persistentes tras el cese del

esfuerzo voluntario. Los hallazgos histológicos se caracterizan por una miopatía no inflamatoria degenerativa. (Feldman y Nelson 2015)

Por otro lado los macroadenomas pueden llegar a comprimir regiones supraselares, invaginar el tallo hipofisario o dilatar el receso infundibular y presionar el tercer ventrículo. En estas situaciones, además del cuadro clínico clásico, aparece una sintomatología neurológica central. Los síntomas neurológicos están presentes en solo un 25% de los casos asociados a tumores mayores de 4-13 mm en su eje vertical, lo que se corresponde con aproximadamente el 60% de los macroadenomas. (Feldman y Nelson 2015)

La mayoría de los síntomas asociados con el efecto masa causado por el tumor son más obvios para los dueños, reconociendo en las primeras fases que el animal está lento de reflejos o embotado, apático e incluso inapetente. Estos signos progresan a anorexia, cambios de comportamiento, pierden el interés por las actividades diarias normales y presentan una respuesta lenta a los estímulos, acompañados de episodios de desorientación. Otros casos más graves muestran obnubilación (figura 9), estupor, ataxia, paresia e inquietud, moviéndose sin parar y sin propósito o rumbo alguno. (Feldman y Nelson 2015)

En casos más avanzados pueden llegar a desarrollar ceguera, “pressing” (oprimen la cabeza contra la pared), movimientos en círculos y en raras ocasiones se observa nistagmo, convulsiones y coma. Aunque es poco común, pueden presentar signos compatibles con lesión de algún par craneal, como anisocoria y estrabismo. Menos del 10% de los perros desarrollan ceguera aguda o muestran un síndrome de degeneración retiniana repentina, que ocasiona ceguera aguda y permanente, aunque su asociación con el HAC no se ha demostrado. En casos extremos, debido a la presión sobre el hipotálamo, pueden llegar a existir alteraciones relacionadas con disfunción del sistema autónomo, como adipsia, incapacidad para regular la temperatura corporal, frecuencia cardíaca errática, pudiendo incluso afectar al sistema RAS impidiendo que se mantengan despiertos (Feldman y Nelson 2015).





**Figura 9.** Falta de reactividad y obnubilación.

Frecuentes	Menos Frecuentes	Raros
Polidipsia	Letargia	Tromboembolismo
Poliuria	Hiperpigmentación	Ruptura ligamentaria
Polifagia	Comedones	Parálisis del nervio facial
Jadeo	Piel fina	Pseudomiotonía
Distensión abdominal	Escaso crecimiento del pelo	Atrofia testicular
Alopecia endocrina	Pérdidas de orina	Anestro permanente
Hepatomegalia	Resistencia a la insulina en diabetes mellitus	
Debilidad muscular		
Hipertensión arterial		

**Tabla 2.** Resumen de las manifestaciones clínicas del hiperadrenocorticismo canino (del consenso de criterios diagnósticos del HAC canino (Behrend y col. 2013)

Otros procesos asociados, o considerados como complicaciones del HAC, además de la sintomatología neurológica, incluyen la hipertensión, la pielonefritis, la insuficiencia cardíaca congestiva, la pancreatitis, la diabetes mellitus, siendo la más grave de ellas el tromboembolismo pulmonar. (Feldman y Nelson 2015).

#### **4.4. Diagnóstico del hiperadrenocorticismo canino**

##### **4.4.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO**

En 2013 se publicó el consenso realizado por un panel de expertos de la American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) para establecer el diagnóstico del hiperadrenocorticismo canino (Behrend et al 2013). En dicho consenso se señala que cada vez se diagnostica más precozmente la enfermedad, por lo que muchos de los signos clínicos son aún sutiles, de manera que frecuentemente la sintomatología es escasa. El consenso establece que se debe sospechar la existencia de esta patología en aquellos animales que presentan uno o más de los signos clínicos o de los hallazgos típicos en la exploración física. Los síntomas de aparición aislada más comunes suele ser la poliuria/polidipsia, o la alopecia y/o los cambios en la piel que sugieren una endocrinopatía. A mayor cantidad de signos encontrados mayor es la indicación para la realización de más pruebas con el fin de llegar a un diagnóstico. No obstante, es necesario recordar que hay otras presentaciones en las que el paciente debuta con algunos de los síntomas que en la tabla anterior figuran como raros o poco comunes (tromboembolismo, resistencia a la insulina, etc) (Behrend y col. 2013).

En aquellas situaciones donde existan otras patologías concurrentes y hay además la sospecha de hiperadrenocorticismo las pruebas endocrinas de función adrenal se deben posponer hasta controlar las enfermedades concomitantes, pues pueden dar resultados poco significativos o compatibles con HAC sin que realmente lo padezcan.

##### **4.4.2. DIAGNÓSTICO ANALÍTICO**

Ante la sospecha clínica de hiperadrenocorticismo se debe obtener una analítica sanguínea completa, un análisis y un cultivo de orina. La analítica debe incluir un hemograma completo y una bioquímica sanguínea que contenga la determinación de enzimas hepáticas, glucemia, colesterol, proteínas plasmáticas, bilirrubina y evalúe la función renal, además de los niveles de iones como calcio, potasio, sodio y fósforo.



En un alto porcentaje de los casos con los hallazgos encontrados en estas pruebas y el cuadro clínico se llega a establecer un diagnóstico de presunción que posteriormente debe ser confirmado mediante pruebas de función adrenal. Conjuntamente es necesario evaluar la presencia de otros problemas concomitantes, como insuficiencia cardíaca, renal o incluso infecciones del tracto urinario. En la tabla 3 se resumen las alteraciones más habituales en perros con hiperadrencorticismo.

## ANÁLISIS SANGUÍNEO

### Hemograma

El exceso de cortisol provoca un leucograma de estrés, caracterizado por neutrofilia y monocitosis, linfopenia debida a linfolisis, y eosinopenia debida al secuestro de eosinófilos en la médula ósea.

Los recuentos plaquetarios generalmente están aumentados en algunos casos incluso por encima de las  $500.000 \times 10^3 \mu\text{l}$ . Los eritrocitos pueden estar levemente elevados por estimulación directa de la médula ósea. (Feldman y Nelson 2015)

### Perfil bioquímico

**Glucosa e insulina:** El exceso de cortisol incrementa la gluconeogénesis y reduce la utilización de la glucosa antagonizando la acción de la insulina, por lo que la glucemia suele estar ligeramente elevada ( $> 120 < 200 \text{ mg/dl}$ ) en la mayoría de los perros con HAC. De forma que pueden observarse ligeros aumentos de la fructosamina y de la hemoglobina glicosilada sin padecer diabetes mellitus (Elliot y col, 1997).

Aproximadamente un 10% de perros con HAC llegan a desarrollar una diabetes mellitus con glucosuria.

**Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN):** la poliuria que acompaña al proceso causa la pérdida constante de nitrógeno ureico sanguíneo en la orina, al igual que sucede con la creatinina. No es frecuente observar azotemia a no ser que exista fallo renal concurrente. (Feldman y Nelson 2015)

**Alanina aminotransferasa (ALT):** los niveles de esta enzima suelen encontrarse leve o moderadamente elevados debido a la hepatopatía esteroidea característica de la enfermedad, que induce acumulación de glucógeno, interferencia con la circulación hepática y necrosis hepatocelular. (Badylak and Van Vleet, 1981).

**Fosfatasa alcalina sérica (FA):** El incremento de los niveles de FA es una de las anomalías bioquímicas más frecuentes (Teske y col. 1989), hallándose aumentada en el 90-95% de los pacientes con niveles próximos a los 1000 UI/L, aunque estas elevaciones no se relacionan con la gravedad del proceso. Sin embargo, éste hallazgo no debe considerarse como un test diagnóstico ya que otras patologías también provocan incremento de la FA. El aumento de la FA en el HAC canino está constituido principalmente por una isoenzima única en perros inducida por los esteroides (SALP) (Wilson y Feldman 1992)

**Colesterol, triglicéridos y lipemia:** los glucocorticoides estimulan la lipólisis, lo que provoca un incremento de los niveles de lípidos y colesterol en el torrente sanguíneo. El 90% de los perros con HAC muestran hipercolesterolemia e hiperlipemia, lo que puede interferir con los resultados de otras pruebas sanguíneas.

**Fósforo sérico:** se puede observar hipofosfatemia, al igual que ocurre en los humanos con hipercortisolismo, debido al aumento de la excreción urinaria de fosfato. Sin embargo, la excreción de calcio también está elevada y puede causar un hiperparatiroidismo secundario e hiperfosfatemia en aproximadamente un 44% de los animales. (Fracassi y col. 2015; Ramsey y col. 2005)

**Ácidos biliares y lipasa pancreática:** Las determinaciones de los ácidos biliares pueden mostrar una ligera elevación de sus valores en al menos un 30% de los perros con HAC (Reusch 2005). Estos perros, sin pancreatitis clínica instaurada, muestran niveles más altos de inmunoreactividad de la lipasa pancreática (cPLI) que los perros sanos. La especificidad de esta prueba es baja al depender en un 45-65% de la técnica empleada, debiendo interpretarse los resultados positivos con cierta precaución (Mawby y col. 2014).

**Electrolitos séricos:** Se observan unas leves alteraciones iónicas que no tienen significado en el diagnóstico, aunque su determinación es útil para evaluar adecuadamente al paciente y valorar el posible desarrollo de un Addison secundario al tratamiento en caso de presentar vómitos o diarrea. En algunas ocasiones apreciamos un descenso del potasio sérico. (Feldman y Nelson 2015)

### **Análisis de orina**

La orina de los perros con HAC suele estar poco concentrada, con una densidad menor de 1.020. Un 10% presenta glucosuria debida a la existencia de diabetes mellitus.

En estos pacientes es frecuente observar proteinuria, con un cociente proteína/creatinina (CP:C) que varía entre 1 a 6 y que se encuentra aumentado significativamente ( $> 1.0$ ) en el 44-46% de los perros con HAC no tratados (Ortega 1996). En estudios recientes se ha evidenciado un CP:C ( $> 0.5$ ) en el 68-71% de los perros con HAC. Incluso es posible apreciar proteinuria en el 21-38% de los perros tratados y bien controlados. Se ha demostrado que la tasa de filtración glomerular (GFR) está elevada en aproximadamente un 60% de los perros sin tratar y que esta decrece una vez se establece el tratamiento (Smets 2012). Por tanto, es conveniente medir el cociente CP:C antes y durante el tratamiento de todos aquellos animales que presenten proteinuria.

**Cultivo urinario:** Aproximadamente de un 40 a un 50% de los perros muestran infección urinaria en su primera visita (Forrester y col., 1999). Debido al efecto antiinflamatorio de los corticoides estos animales no suelen mostrar los típicos síntomas de polaquiuria y/o estranguria o la presencia de leucocitos en la orina.

Esta elevada incidencia de infecciones es debido al efecto inmunosupresor del exceso de corticoides, a la sobredistensión vesical que impide el vaciado completo de la vejiga, con la consiguiente permanencia de un remanente de orina, y a la dilución de la orina que favorece las infecciones (Lulich y col. 1999).

Hemograma	Bioquímica sanguínea	Análisis de orina
Leucocitosis neutrofílica	Aumento de la fosfatasa alcalina	Densidad < 1.018-1.020
Linfopenia	Aumento de la alanina aminotransferasa	Proteinuria
Eosinopenia	Hipercolesterolemia	Infección del tracto urinario
Trombocitosis	Hipertriglicerinemia	
Leve eritrocitosis	Hiperglucemia	

**Tabla 2.** Tabla resumen de las alteraciones más frecuentes en la analítica sanguínea y urinaria de perros con HAC (del consenso de criterios diagnósticos del HAC canino (Behrend y col. 2013))

#### 4.4.3. DIAGNÓSTICO POR IMAGEN

En los últimos 10 años, el diagnóstico por imagen en medicina veterinaria ha incrementado y mejorado los equipos a su disposición con la llegada de la tomografía computerizada (TC) y de la resonancia magnética (RM), así como a la renovación de los dispositivos de ecografía. El diagnóstico por imagen es una herramienta de gran utilidad en perros con sospecha de HAC. La técnica que se emplea rutinariamente es la ecografía abdominal, aunque para visualizar la lesión hipofisaria en los perros con HAC es necesario realizar TC o RM (Feldman y Nelson 2015).

##### 4.4.3.1. RADIOGRAFÍA

La radiografía actualmente no aporta gran información. Una de las posibles complicaciones en los perros con HAC es el tromboembolismo pulmonar (TEP), posiblemente debido al estado de hipercoagulabilidad que acompaña a la enfermedad. Radiográficamente se pueden observar hipovascularización en algunas áreas pulmonares, derrames o incluso infiltrados pulmonares. (Feldman y Nelson 2015)

##### 4.4.3.2. ECOGRAFÍA ABDOMINAL

La evaluación ecográfica del abdomen se incluye en el protocolo de diagnóstico de todos los perros con sospecha de hiperadrenocorticismos, reemplazando al estudio radiográfico. La ecografía aporta mucha más información que la radiografía en el estudio

del abdomen, permitiendo la visualización del parénquima y las dimensiones de los órganos abdominales, el estado de los vasos sanguíneos y el contenido y la motilidad intestinal. Permite valorar el tamaño y aspecto de las glándulas adrenales, conocer la presencia de masas adrenales uni o bilaterales y si éstas masas invaden o no estructuras adyacentes, como la vena renal o la cava. Además evalúa la existencia o no de metástasis ganglionares, hepáticas o renales.

Las glándulas adrenales normales son hipoecogénicas, bilobuladas y aplanadas, situadas craneal y medialmente a los riñones. La adrenal izquierda tiene un tamaño aproximado de entre 3 a 16 mm de diámetro máximo y de 10 a 50 mm de longitud, mientras que la derecha posee unas dimensiones que varían de los 3 a 14 mm de diámetro máximo y de unos 10 a 39 mm de longitud (Barthez y col. 1995; Horeauf y Reuch, 1996; Douglas y col. 1997). El mejor indicador de adrenomegalia es el grosor de los lóbulos de la glándula, considerándose durante décadas que un diámetro máximo del polo caudal superior a 7,4 mm, independientemente del tamaño de la raza del perro, era indicativo de adrenomegalia (Barthez y col. 1995; Grooters y col. 1996). Sin embargo, un estudio reciente señala que el grosor de los lóbulos de las glándulas adrenales varía en función de la raza y del tamaño corporal. El límite superior del polo caudal es de 5,4 mm (glándula izquierda) y de 6,7 mm (derecha) para Yorkshire terriers, y de 7,9 mm (izquierda) y de 9,5 mm (derecha) para Labrador retrievers (Chalus y col. 2013). La edad también es otro factor que influye en el tamaño adrenal, de manera que a mayor edad mayor es el tamaño glandular (Bento y col. 2014).

En un 80% de los perros con HAC hipofisario hay un incremento de tamaño simétrico de ambas adrenales debido a una hiperplasia glandular. Sin embargo, en un 20% de perros con HAC hipofisario el tamaño de las adrenales es normal (Penninck y d'Anjou 2010).

Cuando se visualiza sólo una glándula es sugerente de que exista una masa o tumor que ha provocado una hipoplasia de la glándula contralateral. Los tumores adrenales suelen mostrar una apariencia redondeada, con cambios en la ecogenicidad y en la forma. La glándula contralateral generalmente aparecerá de menor tamaño, habiéndose descrito que las dimensiones de los lóbulos de la glándula contralateral son

menores de 5 mm. También es posible encontrar afectadas ambas adrenales. (Penninck y d'Anjou 2010)

#### 4.4.3.3. TÉCNICAS DE IMAGEN AVANZADAS

En los últimos años ha aumentado la disponibilidad de herramientas diagnósticas como la TC o la RM en medicina veterinaria. En perros con hiperadrenocorticismos el método de elección para la evaluación de la hipófisis es la RM debido a la mejor diferenciación de los distintos tejidos intracraneales, permitiendo visualizar incluso pequeños tumores y otras anomalías en el tejido cerebral (Duesberg y col. 1995; Bertoy y col. 1995)

#### TOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA (TC)

El empleo de la TC se ha incrementado en veterinaria en los últimos años, haciéndose un hueco entre las técnicas más habituales de diagnóstico por imagen debido a su coste asequible y a la cada vez más amplia disponibilidad de esta técnica.

Para la realización de TC la inmovilización del animal requiere un periodo de tiempo variable que oscila de unos 15 minutos a los 45 minutos, en función de la destreza del operador y del tipo de equipo (dependiendo del número de detectores el estudio es más o menos rápido), de manera que el empleo de un equipo con 16 detectores helicoidal, además de aportar mayor calidad de imagen, reduce el tiempo de la exploración y por tanto la anestesia, pudiendo obtenerse el estudio solo mediante una sedación (Schwarz y Saunders 2011).

En los perros, al igual que en los humanos, se ha demostrado que la realización de estudios dinámicos, mediante la adquisición de imágenes pre y post administración de un agente de contraste que contiene yodo soluble en agua, es de gran utilidad para el diagnóstico de microadenomas hipofisarios. El pico de detección del agente en la hipófisis aparece a los 10-30 segundos postinyección, haciéndose una toma de imágenes a distintos intervalos para evaluar la llegada, permanencia y desaparición del contraste y el patrón de realce que presenta (Graham y col. 2000). Así, durante los 30 a 50 segundos postinyección el derivado yodado se encuentra en su máxima concentración, dándole a la glándula una apariencia de triángulo invertido con un margen dorsal irregular, y a

medida que el tiempo progresa se forma un anillo de realce periférico que rodea una zona hipoatenuada de la glándula. La neurohipófisis presenta un patrón de captación diferente. Estos estudios pueden mostrar anomalías focales o difusas. Además del patrón de captación del contraste se deben valorar otros signos, como si existe o no desplazamiento de la neurohipófisis, del tallo hipofisario y si se aprecian imágenes compatibles con hidrocefalia provocada por una obstrucción en el tercer ventrículo, entre otras (Graham y col. 2000, Duesberg y col. 1995; Van der Vlugt-Meijer y col. 2007).

La apariencia de la glándula en el estudio mediante TC es muy similar a la observada en los hallazgos con RM, mostrando un aspecto redondeado y con patrón de realce tras la inyección de contraste distinto entre la AH y la NH por las diferencias en la vascularización existente entre ambas. Observaremos una fuerte captación en la NH situado centralmente y un realce más retrasado en el tiempo y más suave periféricamente que se correspondería con la AH (Van der Vlugt-Meijer y col. 2002).

Esta tecnología nos serviría también para obtener un estudio de las glándulas adrenales en el caso de sospecha de HAC adrenal. Según el consenso diagnóstico (Behrend y col. 2013) lo ideal tras observar un tumor adrenal mediante ecografía es efectuar un estudio mediante TC o RM para valorar la extensión de la masa e identificar adecuadamente la presencia de invasiones vasculares y de los tejidos adyacentes y para identificar la existencia de posibles metástasis (Schwarz y Saunders 2011).

### RESONANCIA MAGNÉTICA (RM)

En medicina humana es la técnica de elección para el estudio de la hipófisis y en general para el estudio del SNC (Kornienko y Pronin 2009). Tiene ciertas ventajas sobre la TC, la principal es el mejor contraste o diferenciación tisular, la ausencia de artefactos causada por los huesos craneales, que en el caso de los perros se encuentra más patente que en los humanos debido al calibre de esta cobertura ósea (Schwarz y Saunders 2011). En su favor además hay que añadir que no utiliza radiación ionizante y que el medio de contraste que se emplea (a base de gadolinio) posee menos efectos secundarios o complicaciones que el contraste yodado. Todas estas características hacen que esta

técnica se convierta en sensible y específica para realizar estas exploraciones (Kornienko y Pronin 2009).

Por otro lado presenta ciertas desventajas con respecto a la TC, destacando que son necesarios tiempos más largos para realizar la exploración (Kornienko y Pronin 2009), por lo que el tiempo de inmovilización, y por tanto de anestesia de los animales, es mayor. No obstante, estos tiempos se reducen cuando empleamos un equipo de mayor campo magnético (Kornienko y Pronin 2009).

Normalmente se obtienen cortes axiales, coronales y sagitales con secuencias potenciadas en T1, pre y postcontraste, y secuencias potenciadas en T2. Aunque hay que señalar que algunos autores prefieren realizar solo cortes sagitales y coronales en T1 pre y postcontraste, además de los potenciados en T2 (Duessberg y col. 1995).

Aproximadamente el 40-50% de los perros sin signos neurológicos de origen central muestran un estudio de RM normal (Graham y col. 2000, Duessberg y col. 1995).

En perros con HAC podemos observar masas hipofisarias con diámetros máximos entre 3 y 13 mm, evidenciándose en todos los casos extensión dorsal y una mayor captación de contraste. En algunos animales se objetiva dilatación de los ventrículos laterales (hidrocefalia); sin embargo, este hallazgo puede ser debido a la atrofia cerebral que se producen con la edad avanzada, como se observa en los humanos (Kornienko y Pronin 2009).

En perros con HACH y sin sintomatología, que en algunos estudios correspondería al 15-25% de los perros con HACH y tumor hipofisario, la lesión tumoral sigue aumentando de tamaño tras el tratamiento médico, por lo que el riesgo de presentar sintomatología neurológica aumenta con el tiempo, pudiendo llegar a aparecer a los 6-18 meses tras el diagnóstico. Los signos neurológicos se suelen asociar con tumores que tienen o superan los 10 mm de diámetro (Duessberg y col. 1995).

Los perros con HACH y sintomatología neurológica tienen edades superiores a los 9,5 años de media y con un peso corporal de alrededor de 24 kg. Todas las masas se visualizan mejor tras la administración de medio de contraste (compuestos con gadolinio).



Las imágenes obtenidas mediante RM permiten evaluar la naturaleza y el tamaño del tumor. En el estudio realizado por Duesberg (1995) en 100 perros con tumor hipofisario, las masas con un diámetro mayor vertical entre 8 y 31 mm se encontraban dentro de los límites de la silla turca, aunque algunas de ellas se extendían dorsalmente en el suelo del tercer ventrículo y en otros casos comprimían el hipotálamo. No se apreciaron áreas de necrosis ni de hemorragia intratumoral y los casos de hidrocefalia fueron escasos.

#### **4.4.2. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO: PRUEBAS DE FUNCIÓN ADRENAL**

Una vez existe la sospecha de la enfermedad tras realizar la historia clínica, la exploración, el panel bioquímico, el hemograma, el análisis de orina y las pruebas diagnósticas de imagen, se debe confirmar la alteración del eje hipofisario-adrenal y determinar si el origen es hipofisario o adrenal, realizándose para ello pruebas hormonales.

Según se establece en el consenso sobre el diagnóstico del HAC (Behrend et al 2013), “los perros con sintomatología e historia clínica, resultados del hemograma y la analítica sanguínea sospechosos de la enfermedad, así como aquellos casos en los que se encuentren el hallazgo de macrotumor hipofisario mediante imagen avanzada, los diabéticos que muestran resistencia a la insulina y los que presentan una masa adrenal, junto con los que manifiestan una hipertensión persistente, deben ser sometidos a pruebas de función adrenal. Solo se deben postponer en aquellos perros que padezcan una enfermedad grave hasta que esta sea resuelta, pues podrían dar resultados falsos positivos”.

Así, la evaluación diagnóstica está constituida por dos fases, por un lado confirmar la existencia de hiperadrenocorticismos, y en un segundo paso diferenciar el origen hipofisario del adrenal, que se iniciaría una vez confirmado el diagnóstico de Cushing.

Las pruebas diagnósticas se basan en la determinación de las concentraciones hormonales en plasma o suero y en el cálculo del cociente cortisol/creatinina en orina. El nivel de cortisol en el plasma, suero u orina, se obtiene en el laboratorio mediante diferentes técnicas: fluorométricas como RIA (radioinmunoensayo), ELISA (ensayo con empleo de enzimas inmunoabsorbentes) o cromatografía líquida (HPLC). Obtener únicamente la medida del cortisol plasmático no posee valor diagnóstico debido a la

secreción pulsátil de la hormona, por lo que se han desarrollado pruebas de estimulación y de supresión del eje HHA. Existen distintas pruebas de estimulación hormonal que ayudan a diferenciar un origen hipofisario de un origen adrenal, permitiendo efectuar el tratamiento más adecuado a cada caso.

En todas estas determinaciones hay que tener en cuenta su especificidad y sensibilidad, que en ningún caso será del 100%, por lo que además habremos de basarnos en la clínica que presenta el animal, la exploración física y el resto de analítica realizada previamente. No se recomienda efectuar las pruebas en perros sin sintomatología o en perros que padecen otras enfermedades graves.

Las pruebas hormonales más comunes son la determinación de cortisol plasmático basal, la estimulación con ACTH, la prueba de la supresión con dexametasona a dosis bajas, la prueba de la supresión con dexametasona a dosis altas, el cociente cortisol/creatinina en orina y la determinación de ACTH plasmática.

Todas las que se exponen a continuación están recomendadas y validadas por el comité que ha establecido el consenso sobre el diagnóstico de hipercortisolismo en 2013.

### CONCENTRACIONES BASALES DE CORTISOL EN REPOSO

La determinación de cortisol basal carece de significado diagnóstico ya que existen grandes variaciones, incluso si el animal está enfermo o ha pasado por una anestesia.

Normalmente este valor está aumentado por encima de la media, pero en muchos casos permanece dentro del intervalo de referencia. Esto se explica por su secreción cíclica, al igual que la ACTH, a lo largo del día, creando una gran cantidad de picos y valles en las concentraciones plasmáticas de cortisol. Su intervalo de referencia se encuentra entre 0,5 a 6 µg/dl.

### PRUEBA DE ESTIMULACIÓN CON ACTH

Es una prueba segura, simple, relativamente barata y que apenas consume tiempo. Evalúa la reserva adrenocortical y es de gran utilidad en el diagnóstico del

Cushing iatrogénico, siendo de menor valor en el HAC espontáneo debido a su baja sensibilidad.

Los perros con HACH muestran una hiperplasia adrenal secundaria a la excesiva estimulación crónica con ACTH. Las adrenales hiperplasiadas producen y secretan cortisol en exceso, al igual que en los perros que muestran una masa adrenal, por lo que en ambos casos al estimular con ACTH se obtiene una respuesta exagerada.

Para realizar la prueba no es necesario ayuno, pudiendo efectuarse a cualquier hora del día, aunque la lipemia puede modificar el resultado. Puede verse afectada por medicaciones, habiéndose observado en la clínica que el ketoconazol, los progestágenos, los agonistas de los receptores de la serotonina y el fluconazol, disminuyen la respuesta a la prueba, mientras que el propanolol la incrementa. En veterinaria es conocida la capacidad para suprimir la secreción adrenal de los progestágenos y el ketoconazol (Behrend y col. 2013).

El protocolo de realización de la prueba consiste en la determinación de cortisol basal y del cortisol pasada 1h tras la administración intramuscular de ACTH sintética, empleando ACTH tetracosactida (Nuvacthen® Synacthen®) a dosis de 5 mcg/kg im.

El intervalo de confianza debe ser establecido por cada laboratorio, aunque suelen estar próximos entre sí, de manera que suele encontrarse entre 0,5-6,0 µg/dl en el cortisol basal y en un intervalo de 6 a 17 µg/dl tras la estimulación. Los valores obtenidos tras la estimulación entre 17 y 22 µg/dl se consideran en el límite de la normalidad, y por encima de 22 µg/dl son compatibles con HAC.

La sensibilidad diagnóstica de la prueba oscila entre un 57 y un 95%, en HACA entre 57-63% y en HACH del 80 al 83%, mientras que la especificidad oscila del 59-93% (Reusch y Feldman, 1991; Gieger y col., 2003; Monroe y col., 2012).

#### **PRUEBA DE LA SUPRESIÓN CON DEXAMETASONA A DOSIS BAJAS**

La administración de glucocorticoides en animales sanos provoca una supresión rápida y prolongada de la secreción de cortisol, mientras que en los perros enfermos, independientemente de la dosis, dicha supresión no se produce. Así, la sensibilidad del

sistema hipofisario-adrenal a ser inhibido se evalúa mediante la administración de un glucocorticoide sintético, empleando una dosis baja que permita discriminar entre perros sanos y perros con hipercortisolismo. El glucocorticoide de elección es la dexametasona, tan potente que la dosis puede ser lo suficientemente pequeña para producir la inhibición.

La prueba se realiza determinando los niveles de cortisol basal antes, a las 4 horas y a las 8 horas de la administración de una inyección intravenosa de 0,01 mg/kg de dexametasona. Si el cortisol a las 8 horas es  $> 1,4$  mcg/dl se considera compatible con HAC. Esta prueba, ocasionalmente, puede también diferenciar el tipo de HAC: si el cortisol a las 4 horas es  $< 1,0$  µg/dl o  $< 50\%$  del cortisol basal, y a las 8 horas es  $\geq 1,4$  µg/dl será compatible con HAC hipofisario y no adrenal. Más de un 90% de perros con HAC tienen una concentración de cortisol a las 8 horas  $\geq 1,4$  µg/dl. La prueba tiene, por tanto, una sensibilidad muy alta (85-100%), pero una especificidad baja (44-73%), ya que muchos perros con enfermedades no adrenales pueden dar resultados compatibles con HAC.

El fenobarbital acelera el metabolismo de la dexametasona, por lo que si se realiza en un paciente tratado con este compuesto la prueba puede dar falsos resultados

### PRUEBA DE LA SUPRESIÓN CON DEXAMETASONA A DOSIS ALTAS

La hiperproducción de ACTH en aquellos perros con HACH puede tener su origen en el lóbulo anterior (80-75% de los casos) o en la *pars intermedia* (20-25%), estos últimos generalmente relacionados con tumores de mayor tamaño (Reijnberk y col. 1987). Además, la *pars intermedia* presenta un control neurológico (inhibición dopaminérgica tónica) que suprime la expresión de los receptores de los glucocorticoides, por lo que los tumores en esta localización son resistentes a la supresión con dexametasona (Reijnberk y col. 1988).

La falta de sensibilidad de la retroalimentación debida a un corticotrofinoma en el lóbulo anterior, así como la ausencia de retroalimentación de los tumores adrenales productores de cortisol, pueden comprobarse realizando una supresión con dexametasona a dosis altas, administrando una inyección intravenosa de 0,1 mg/kg. Se

determinan los niveles de cortisol antes y a las 8 horas de la administración de la dexametasona intravenosa. Si el cortisol a las 8 horas es  $<1,4 \mu\text{g/dl}$  ó  $<50\%$  del cortisol basal, el HAC es “supresible” y tiene un origen hipofisario. Si, por el contrario, a las 8 horas es  $> 1,4 \mu\text{g/dl}$  ó  $>50\%$  del cortisol basal, no se pueden distinguir y necesitaremos realizar otra prueba de diferenciación (nivel de ACTH endógena).

### COCIENTE CORTISOL/CREATININA EN ORINA

Consiste en la relación entre la concentración de cortisol y la de creatinina (relativamente constante) en una muestra de orina de primera hora de la mañana. En animales con HAC, el cociente está elevado (valor de corte establecido por el laboratorio). Es una prueba muy sensible ( $>95\%$ ), pero poco específica ya que muchos perros con otras enfermedades dan resultados patológicos. Este cociente cortisol/creatinina urinario se puede hacer también combinándolo con la supresión con dexametasona por vía oral. Se determina en 3 muestras de orina (las primeras de la mañana) de tres días consecutivos antes de la administración de dexametasona. El segundo día, tras recoger la muestra de orina, se administra dexametasona ( $0,1- 1 \text{ mg/kg}$ ) por vía oral cada 8 horas. Los 2 primeros cocientes (la media) establecen si es compatible con la enfermedad (si está por encima del valor de referencia) y el tercero diferencia si el HAC es supresible (inferior al  $50\%$  del primer valor, hipofisario) o no supresible (superior al  $50\%$  del primer valor, adrenal). Es bastante sensible, pero poco específica, ya que otras causas de PD/PU pueden dar lugar a un falso positivo.

### DETERMINACIÓN DE ACTH

La determinación de los niveles de ACTH endógena es muy eficaz, ya que señala el origen de la enfermedad en la mayoría de los perros que no presentan supresión con dexametasona a altas dosis. Los valores normales oscilan entre  $10$  a  $100 \text{ pg/ml}$ ; en HAC hipofisario  $45$  a  $450 \text{ pg/ml}$ ; en HAC adrenal  $<20 \text{ pg/ml}$ . Sin embargo, el plasma debe manipularse con cuidado, congelarse rápidamente, no es una técnica rutinaria y es una prueba cara.

#### **4.5. Tratamiento del hiperadrenocorticismo canino**

Existen varias opciones terapéuticas para el HAC. El tratamiento ideal es intentar erradicar la etiología y, en caso de no poder realizarse, se pueden administrar terapias médicas que disminuyan los niveles de cortisol y controlen la sintomatología. En la actualidad, el tratamiento más empleado es mediante los inhibidores de la síntesis de cortisol (Melián y col. 2015).

##### **4.5.1. CIRUGÍA**

En el caso del HACH se puede realizar una hipofisectomía transesfenoidal. Es una técnica quirúrgica que requiere de cierto aparataje y de un gran entrenamiento y destreza del equipo que la realice. Con un abordaje transesfenoidal se accede al suelo de la silla turca y se extrae el tumor o la hipófisis, en función del tamaño de la neoplasia (si es visible o no). Requiere anestesia total y un tratamiento hormonal sustitutivo posterior con hospitalización del paciente y analgesia.

Con este procedimiento quirúrgico se obtiene una respuesta favorable en más del 85% de los casos. Las complicaciones asociadas son hipernatremia transitoria, disminución transitoria de la producción de lágrimas, diabetes insípida, hipoadrenocorticismo e hipotiroidismo. Aparecen recidivas en aproximadamente un 15% de los perros tratados. En la actualidad su disponibilidad es limitada (Hanson y col. 2005).

##### **4.5.2. TRATAMIENTO MÉDICO**

Son varios los medicamentos empleados a lo largo del tiempo para el tratamiento médico de HAC canino. Atendiendo a su nivel de actuación, se podrían clasificar en los que actúan sobre la hipófisis y los que actúan a nivel adrenal y, por otro lado, se pueden clasificar como tratamientos habituales y experimentales. En la tabla 3 se muestran los tratamientos médicos para el HAC, muchos de ellos experimentales y en algunos casos poco eficaces, por lo que solo vamos a mencionar los más empleados en la actualidad.

Los tratamientos habituales para el tratamiento de la enfermedad actúan sobre la glándula adrenal inhibiendo la síntesis de cortisol, actuando en distintos puntos de la cascada de la síntesis hormonal glandular (ketoconazol y trilostano), o bien destruyendo la corteza adrenal (mitotano).

		Habituales	Experimentales	En desuso
Hipófisis	Análogos somatostatina		Pariseotide Octreotide	
	Agonistas dopamina		Bromocriptina Cabergolina Selegilina	
	Antiserotoninergico		Ciproheptadina	
	PPAR-γ		Rosiglitazona	
	Antagonista glucocorticoides		Mifepristona	
	Sobre el gen POMC		Ác. Retinoico	
<b>Adrenales:</b> inhiben esteroidogénesis		Mitotano Trilostano	Aminoglutetimida Etomidato LCI699 Metirapona	Ketoconazol

**Tabla 3.** Clasificación de los tratamientos médicos del hiperadrenocorticismo canino

#### 4.5.2.1. Mitotano

Derivado el insecticida DDT, el *o,p'*-DDD, fue utilizado por primera vez por Schechter y col en 1973. Durante dos décadas ha sido la terapia de elección para el HAC canino, hasta el empleo del trilostano. Es un fármaco con un potente efecto adrenocorticolítico que causa necrosis de la zona glomerular y fasciculada de la glándula adrenal. Se han descrito dos protocolos del uso del mitotano para el tratamiento del HAC, con dosis desde 50 mg/kg/día hasta 100 mg/kg/día (Peterson 2001). Su eficacia es elevada, más del 70% de los perros con HAC responden a la terapia. Sin embargo, su toxicidad gastrointestinal y hepática es moderada y es un contaminante medioambiental por lo que su uso en la actualidad es escaso.

Con este fármaco se han alcanzado supervivencias de 662 días (Barker y col. 2005) o de  $985 \pm 57$  días (Arenas 2011).

#### 4.5.2.2 Ketoconazol

Es un imidazol antifúngico que reduce los niveles séricos de cortisol mediante inhibición de la citocromo P450, enzima que interviene en la biosíntesis de esteroides gonadales y adrenales, sin afectar, o con un efecto mínimo, sobre los mineralocorticoides. A dosis de 5-10 mg/kg provoca una disminución de los niveles de cortisol. Además puede antagonizar los receptores de los glucocorticoides. Ha sido eficaz en el control del hiperadrenocorticismo en algunos pacientes, con una efectividad entre el 30-50% (Lien y Huang 2008; Peterson 2001).

Los efectos secundarios son poco frecuentes, y consisten en vómitos, anorexia, diarrea y un incremento transitorio de los niveles de enzimas hepáticas. (Behrend 2006).

Dada su moderada eficacia en la actualidad se emplea menos que el trilostano.

#### 4.5.2.3. Trilostano

Es un compuesto esteroide sintético (4,5 epoxy 17-hidroxi-3-oxoandrostando-2 carbonitrilo). Actúa competitivamente sobre la  $3\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa ( $3\beta$  HSD), enzima que interviene en la síntesis de varios esteroides como el cortisol y la aldosterona y por tanto inhibe la conversión de los  $3\beta$  hidroxisteroides: pregnenolona, 17 hidroxipregnenolona y dihidroxiandrostano (DHEA) en 3 cetosteroides (progesterona, 17 hidroxiprogesterona y androstendiona). No tiene una acción hormonal per sé, por lo que no interacciona con los principales receptores de las hormonas sexuales. Se cree que además actúa sobre la  $11\beta$  hidroxilasa que conduce a una reducción de la conversión de 17-hidroxiprogesterona en cortisol y cortisona. (Wenger y col. 2004; Teshima y col. 2014).

Su eficacia se encuentra en torno al 67%-100% según los diferentes estudios, con una supervivencia variable, con una media de 31 meses, pero llegando a alcanzar los 730 días (den Hertog y col. 1999) o los  $1051 \pm 78$  días (Arenas 2011). Reduce las concentraciones de cortisol y el cociente cortisol/creatinina en orina, aunque se debe utilizar con precaución en perros con enfermedades hepáticas y renales graves. Se han



descrito dos protocolos de uso, cada 12h y cada 24h, y la dosis recomendada en la actualidad es de 1-3 mg/kg/día. Controla la sintomatología eficazmente a partir de las 1-3 semanas tras iniciar el tratamiento (Burkhardt y col. 2013), pudiéndose administrar tanto en los casos de origen adrenal como hipofisario, sin embargo en estos últimos el tumor hipofisario puede seguir creciendo. Se han descrito unos pocos casos de necrosis de la corteza adrenal producida por el trilostano, rondando un 3% de los animales tratados (Neiger y col. 2002; Chapman y col. 2004). En la actualidad se considera el tratamiento médico de elección en perros con HAC por su elevada eficacia, su reducida toxicidad y su disponibilidad (Feldman y Nelson 2015).

#### **4.5.3. RADIOTERAPIA**

Es un método de tratamiento de lesiones tumorales muy extendido en medicina humana, y en menor medida en veterinaria por el precio del aparataje y de la preparación de las salas donde se ha de realizar, aunque empiezan a existir hospitales universitarios y privados donde poder acudir para este tipo de tratamientos. Ha evolucionado mucho en los últimos 70 años. Existen distintas modalidades de aplicación, de forma que disponemos de la radioterapia externa fraccionada clásica, la estereotáctica y la radiocirugía, además de otras variedades como la braquiterapia, que consiste en colocar la fuente de radiación en la propia lesión.

##### **4.5.3.1. Radiofísica y radiobiología**

La Radiobiología estudia los efectos de la radiación ionizante. Tras la irradiación se produce una cascada de interacciones que da lugar a los efectos biológicos de la misma (Ganz 2011). La radiofísica estudia las bases físicas de la producción y transmisión de la radiación ionizante. Esta última debe su nombre a que posee la suficiente energía como para extraer electrones de los átomos o romper los enlaces entre los átomos y las moléculas de manera que la radiación actúa a nivel atómico y subatómico. Con estas cualidades podemos distinguir los Rayos X, la luz ultravioleta y los rayos gamma (Biete 1990).

Hay dos tipos básicos de radiación: la electromagnética que no tiene masa y viaja a la velocidad de la luz, y la radiación corpuscular, formada por protones, neutrones o electrones, que tiene masa y viaja con una velocidad menor a la mencionada

anteriormente. Ambos tipos pierden energía al interactuar con la materia. La unidad de la dosis absorbida es el Gray (Gy) (Ganz 2011).

Con fines terapéuticos se utilizan la radiación gamma y los rayos X, así como la radiación alfa, beta,... Los rayos gamma son un tipo de radiación electromagnética que presenta un determinado rango de energía, situada en el espectro ionizante (radiaciones con una longitud de onda inferior a 100 nm, es decir, una energía de 12,4 eV= energía mínima necesaria para arrancar un electrón de un átomo de oxígeno). Esta radiación se produce en los núcleos inestables de una fuente natural y su rango energético es menor que el de los rayos X (producidos artificialmente).

Para producir radiación gamma con fines terapéuticos se pueden emplear isótopos como  $^{192}\text{Ir}$  o  $^{137}\text{Cs}$  entre otros, aunque en el caso que nos compete, la Gamma Knife, la fuente utilizada es el  $^{60}\text{Co}$ , producido comercialmente a partir de  $^{59}\text{Co}$ . El periodo de semidesintegración del  $^{60}\text{Co}$  es de 5,27 años y los fotones producidos poseen dos energías: 1,17 y 1,33 MeV (Ganz, 2011).

La eficacia de la radiación se relaciona con la transferencia lineal de energía de un haz (LET), o lo que es lo mismo, la cantidad de energía depositada por esa radiación por unidad de longitud del medio que atraviesa. Depende pues de la energía y del tipo de radiación (fotones, protones, neutrones...), además de las características del medio material atravesado (su peso atómico). Los fotones son de baja LET y en el caso del  $^{60}\text{Co}$  esta es de 0,2 keV/mm. (Biete 1990).

Los efectos sobre los tejidos de la radiación ionizante se clasifican en dos tipos: directos e indirectos. Las células, al recibir radiación de baja LET, van a sufrir una serie de cambios. La mayoría de las interacciones de los fotones tienen lugar en las moléculas de agua produciendo electrones que ionizan otras moléculas de agua. El resultado es que dichas moléculas se disocian en hidrogeniones ( $\text{H}^+$ ) e iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ), radicales libres con una vida media muy corta. Los radicales  $\text{OH}^-$  son muy reactivos y poseen suficiente afinidad electrónica para romper enlaces químicos en las moléculas adyacentes. (Ganz 2011). Esta acción a través de los radicales libres como intermediarios es el “efecto indirecto” de la radiación y supone un 70% del daño producido por ésta.

El efecto directo es el deterioro producido por la interacción directa de los electrones con moléculas biológicamente importantes (ADN). Se considera que el daño sobre la cadena doble de ADN es necesario y suficiente para provocar la muerte celular y se define como la pérdida de la capacidad de división. Además de este daño letal directo (medido por el coeficiente  $\alpha$ ), existen daños subletales, que no producen por sí mismos la muerte celular y que pueden ser reparados, pero en ocasiones, si no hay reparación o se acumulan, pueden llegar a desencadenarla (se miden por el coeficiente  $\beta$ ). En general el tejido sano es más capaz de reparar estas lesiones que el tumoral, debido parcialmente a los mecanismos de control del ciclo celular aberrante en los tumores, así como a las diferencias genéticas del tipo neoplásico (Joiner 2004; Ganz 2011).

La probabilidad de supervivencia de una célula tras recibir una única dosis de radiación ionizante está en función de la dosis absorbida ( $\text{Gy} = \text{J/kg}$  “energía/masa”) (Lozano y col. 2009).

La respuesta a la radiación ionizante es diferente en los distintos tejidos y tumores, por lo que pueden dividirse en dos grupos: de “respuesta lenta” o “respuesta rápida”. En ello se basan los conceptos de radiosensibilidad y radioresistencia. En general, las células requieren un tiempo para reparar su ADN, así uno de los efectos de la radiación es retrasar o alargar el ciclo celular. De este modo se ha comprobado que son más sensibles al efecto de la radiación ionizante los tumores y, dentro de ellos, los malignos, debido a que el efecto sobre el ADN es más importante en células que suelen tener una alta tasa de división como las neoplásicas. Esto hace también que ciertos tejidos sanos cuyas células sufren un constante recambio, y por lo tanto se encuentran en fases de su ciclo celular donde es más sensible el material genético (fase G2 y de mitosis), sufran más los efectos de la radiación, como la piel y las mucosas. (Biete 1990, Ganz 2011).

La respuesta de cada tejido se estima en función de la relación entre los daños letales y subletales que sufre (cociente  $\alpha/\beta$ ). El SNC pertenece a los tejidos de respuesta lenta, pues su cociente  $\alpha/\beta$  es bajo ( $\leq 5$ ), predominando los daños subletales en este efecto. Las dosis bajas y fraccionadas causan daños reparables en él. Se desprende por tanto que el efecto de la radiación depende de la dosis administrada, el número de veces

que se realiza (número de sesiones o fracciones) y el cociente  $\alpha/\beta$  del tejido al que se irradia (Lozano y col. 2009).

Otro factor que influye en el efecto de un tratamiento radioterápico es el “tiempo”. Los efectos de una misma dosis administrada y absorbida en un tejido varían en función del periodo de tiempo en que se haya administrado. Con el fin de estandarizar las comparaciones se habla de “tasa de dosis absorbida” como la dosis absorbida por unidad de tiempo. En tratamientos como los de la Gamma Knife, donde el tratamiento a veces se precisa de una hora o más para alcanzar la dosis adecuada, el tiempo puede ser un factor que afecte al resultado (Ganz 2011).

También habría que tener en cuenta, en los tratamientos con Gamma Knife y con otros equipamientos radioterápicos, el periodo de semidesintegración del cobalto. Con fuentes nuevas la tasa de dosis es mayor que cuando llevan varios años utilizándose, de forma que se precisa un periodo de tiempo más prolongado en los últimos casos para alcanzar la misma dosis total administrada que en los primeros (Ganz 2011).

Con estos parámetros se elaboran las ecuaciones que indican las dosis biológicas equivalentes (en diferentes esquemas de fraccionamientos y diferentes tejidos) y las distintas probabilidades de control tumoral y de complicaciones. Sucesivos estudios, en función de los resultados analizados, van indicando qué dosis y qué fraccionamiento son adecuados para cada tratamiento, optimizando la relación control/daño. (Emami y col. 1991)

En los tratamientos de tumores, la probabilidad de controlarlos es la probabilidad de inactivar todas las células neoplásicas tras aplicar el tratamiento elegido. El tamaño tumoral es uno de los determinantes del volumen de tejido sano circundante que será irradiado en el momento del tratamiento, por lo que además del control tumoral es esencial valorar incluso las probabilidades de alterar el tejido sano adyacente, es decir, las probabilidades de complicaciones o toxicidad en dicho componente sano y la tolerancia a la radiación que pueda tener este tejido. El tratamiento ideal es aquel que consigue un 100% de control tumoral sin toxicidad para los componentes tisulares adyacentes. Para ello se valora la respuesta del tejido sano, del mismo modo que el

tumoral, y teniendo en cuenta los mismos aspectos. Esa toxicidad depende no solo del volumen irradiado sino también de la propia tolerancia de las estructuras particulares (Emami y col. 1991). En el caso de la hipófisis los órganos de riesgo a tener en cuenta son tejidos tan importantes como la vía óptica (II par), el diéncéfalo, los pares craneales III, IV, V y VI y las carótidas. Se ha comprobado que algunos pares craneales como el trigémino tienen mayor tolerancia a la radiación que otros como el óptico (Leber y col. 1998). En la revisión realizada por Milano y sus colaboradores en 2011 se apunta que una dosis máxima < 8Gy en el nervio óptico y el quiasma asegura un riesgo de sintomatología relacionada con neuropatía óptica provocada por radiocirugía de un 0-1%. Las neuropatías de los nervios III, IV y VI que controlan el movimiento del globo ocular pueden conducir a parálisis del musculo inervado por el par correspondiente, con pérdida de movimientos del globo y/o diplopía, mientras que el nervio trigémino da sensibilidad a la mayor parte de la cara y su tolerancia se encuentra por debajo de 12 Gy, aproximadamente. Otra estructura importante es la arteria carótida que tolera hasta los 20-23 Gy, pero si se sobrepasan puede inducir estenosis, trombosis u oclusión, lo que puede conducir a infarto cerebral (Milano y col. 2011).

Los principales efectos adversos descritos en veterinaria dependen del equipo radioterápico empleado y de las fuentes de las que disponga. En la mayoría de los casos se han empleado equipos con dos fuentes, en los que la dosis total para tejido tumoral cerebral es de unos 30-50 Gy fraccionada en dosis de entre 2- 4 Gy administradas en 3-5 sesiones semanales durante 3-5 semanas, según el tumor a tratar. (Lester y col 2001; Mayer y Treuil, 2007, Goosens y col. 1998; De Fornel y col. 2007). Estos efectos pueden observarse a corto plazo, durante el periodo de tratamiento o inmediatamente después a lo largo de las 2-3 semanas tras el tratamiento, y consisten en afectación de tejidos de rápido crecimiento celular como la piel (eritemas, depilaciones y leucotriquia), mucosa faríngea (mucositis faríngea) o en el canal auditivo externo (otitis) Pasadas unas tres semanas tras la última sesión de radioterapia se pueden observar signos neurológicos similares a los que existían antes del tratamiento (Mayer y Treuil, 2007), que se resuelven espontáneamente o con el empleo de corticoterapia. Tras meses o años post-tratamiento pueden aparecer las lesiones tardías debidas a radiotoxicidad, que puede incluir sordera total o parcial, ceguera, hipopituitarismo, lesiones del trigémino,

queratoconjuntivitis seca, y la más grave: necrosis de las distintas estructuras cerebrales (Goosens y col. 1998).

#### 4.5.3.2. Tipos de radioterapia

Existen gran cantidad de medios o equipamientos para realizar este tipo de tratamientos. Las diferencias no solo se basan en la fuente de radiación, sino también en la cantidad de fuentes y la disponibilidad o no de robótica o informática en la que apoyarse para planificar el tratamiento.

Los equipamientos más extendidos en veterinaria son de tres tipos:

**Ortovoltaje:** cada vez se usan menos porque no disponen de informática para planificar el tratamiento y producen efectos agudos inmediatos, como eritemas. (Northrup y col. 2001, Moore 2002)

**Bombas de cobalto 60:** también tienen sus desventajas, como la baja energía con una baja penetración de la dosis (Moore 2002).

**Aceleradores lineares:** son capaces de facilitar una gran cantidad de energías, permitiendo el tratamiento bien con fotones o con protones, en función del equipamiento. Penetran en regiones profundas y permiten una mayor homogeneidad de la dosis (McEntee 2004).

Estos equipamientos distribuyen la dosis prescrita en fracciones que se llevan a cabo en sesiones de 3-5 semanales durante una medida de 3-5 semanas según el tumor de que se trate, lo que conlleva anestesia en cada una de esas sesiones para mantener a los animales inmovilizados (De Fornel 2007, Brearly 1999).

Menos extendido en el ámbito veterinario se encuentra la radioterapia estereotáctica y la radiocirugía, esta última objeto de nuestro estudio.

#### 4.5.4. Radiocirugía

El primer método estereotáctico diseñado para humanos se empleó en 1947 por Spiegel y Wycis. Alrededor de los años 50 estas técnicas evolucionaron en su utilización para la radioterapia de tumores craneales, bien para el empleo de fuentes radiactivas implantadas en el área susceptible de tratamiento (braquiterapia) o bien mediante el empleo de un haz externo convergente en un punto desde diferentes posiciones (radiocirugía) coexistiendo junto con la radioterapia clásica (haz externo de aplicación fraccionada).

Existen varias definiciones del concepto de radiocirugía:

1. La definición de Leksell era: “la radiocirugía estereotáctica es una técnica no invasiva para destruir una estructura cerebral profunda sin riesgo de sangrado o infección” (1983)
2. Börje Larsson, su coinventor junto con Leksell, amplió este concepto: “la radiocirugía es cualquier tipo de aplicación de energía en forma de radiación ionizante, tanto en investigación biológica como en medicina clínica, con el fin de la precisa y completa destrucción de unas estructuras determinadas elegidas que contienen células sanas o enfermas sin provocar radiolesiones concomitantes o retardadas a los tejidos adyacentes”. (Larsson 1992).
3. Por último hay una definición más extensa y moderna publicada en [www.AANS.org](http://www.AANS.org) (American Association of Neurosurgeons): “la radiocirugía estereotáctica es una disciplina distinta que utiliza la radiación ionizante generada externamente en determinados casos para inactivar o erradicar una diana definida en la cabeza o en la médula espinal sin la necesidad de hacer una incisión. Esta diana es definida mediante imágenes tomadas en estereotaxia y de alta resolución. Para asegurar la calidad del cuidado del paciente el procedimiento ha de llevarse a cabo por un equipo pluridisciplinar, que consiste en un neurocirujano, un oncólogo radioterapeuta y un radiólogo. Normalmente se efectúa en una sola sesión, empleando un dispositivo estrechamente unido al paciente que servirá como guía, o bien cualquier medio o tecnología de inmovilización y/o sistema de ayuda estereotáctica para la imagen, pero empleando un número limitado de sesiones, como máximo 5.

Las tecnologías empleadas para llevar a cabo estos procedimientos de radiocirugía estereotáctica incluyen los aceleradores lineales, los aceleradores de partículas y las unidades multihaces de cobalto 60. Con el fin de mejorar la precisión algunos de estos equipos pueden incorporar robótica o imágenes adquiridas en tiempo real”.

#### 4.5.4.1. Tipos de Radiocirugía

##### **Acelerador Lineal (LINAC):**

El LINAC consta de un magnetrón donde se liberan electrones que se introducen en un tubo donde se aceleran con una potente radiofrecuencia. Una vez conseguida la velocidad requerida se frenan con una placa de material pesado produciéndose fotones de frenado (Bremsstrahlung). Esta radiación se emite preferentemente en la misma dirección que los electrones, constituyendo un haz de fotones que se dirigen hacia un colimador para formar un haz de radiación. (Podgorsak 2005)

El dispositivo está montado en un gantry que puede rotar alrededor del paciente. Su uso en radioterapia convencional fue evolucionando, desde la realización de tratamientos extracraneales hasta llegar a tratamientos más complejos y precisos con mejoras añadidas al equipo que condujeron a la radioterapia estereotáctica y la radiocirugía, tratando ya lesiones intracraneales con similares garantías de seguridad. Para ello emplean múltiples haces de irradiación con entradas por distintos puntos del cráneo, depositando una alta dosis de radiación debida a la sumación de la de cada uno de los haces en el objetivo (Podgorsak 2005).

Con un equipo de estas características se han realizado tratamientos de tumores intracraneales caninos en el Hospital Universitario de la Universidad de Florida, entre ellos 4 adenomas hipofisarios que recibieron una dosis media de 16,25 Gy en un rango de 15 a 25 Gy. La supervivencia media en este estudio para todos los tipos tumorales en conjunto fue de 399 a 493 días. En ninguno de los casos se observaron reacciones adversas, ni a corto ni a largo plazo. (Mariani y col. 2015).

Los sistemas mecánicos, así como los de planificación, han mejorado notablemente en los últimos años dando un gran impulso a estas técnicas. Entre los nuevos LINAC capaces de realizar Radiocirugía destacan: el sistema Cyberknife.

**CYBERKNIFE (CK)** (Accuray, Sunnyvale, CA): Desarrollada en la década de los 90 por John Adler en la Universidad de Stanford. Como en el resto, la idea es utilizar la tecnología existente para radiocirugía estereotáctica en el resto del cuerpo, además de en lesiones intracraneales, sin necesidad de marco estereotáctico. Se trata de un pequeño LINAC montado en un brazo robotizado que permite la irradiación procedente



de hasta 1.200 posibles haces no isocéntricos en prácticamente todas las direcciones posibles entorno al paciente. El tratamiento se desarrolla mediante “planificación inversa”, es decir, indicando al sistema informático las dosis de tratamiento, así como las dosis limitantes en función de los órganos sanos periféricos, adjudicando prioridades a cada uno de los datos. Su precisión es submilimétrica (Chang y col. 2003). El equipo consta de un sistema para la obtención de imágenes digitales de alta resolución, proporcionando un seguimiento en tiempo real del movimiento del paciente y de la posición del objetivo. Los resultados de los tratamientos intracraneales con CK han sido excelentes, aunque no llegan a superar los conocidos con la Radiocirugía con GK.



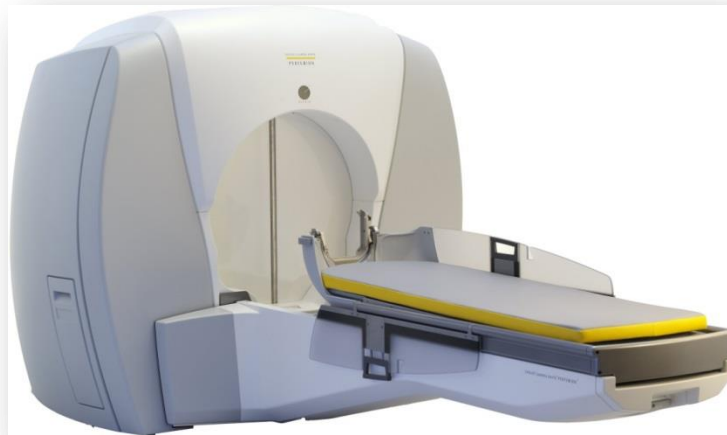
**Figura 11.** *Cyberknife®. Cortesía del Servicio de Radiocirugía del Hospital Ruber internacional.*

### **GAMMA KNIFE®** (Elekta Instruments AB, Stockholm, Suecia)

En 1951 Lars Leksell, neurocirujano sueco pionero en el desarrollo de instrumentación para estereotaxia cerebral, y Börje Larsson, físico y radiobiólogo, desarrollaron el concepto de radiocirugía usando al principio una fuente de rayos X de ortovoltaje (240kV) y posteriormente el ciclotrón para investigación de la Universidad de Uppsala. Su intención era provocar una pequeña zona de necrosis cerebral mediante

convergencia de un gran número de haces de radiación en una localización muy concreta utilizando para ello las técnicas estereotácticas de neurocirugía (Leksell 1951).

En 1968 se desarrolló la primera Gamma Knife con fuentes fijas de  $^{60}\text{Co}$ . En las siguientes décadas esta técnica cobró mayor auge, potenciado por el desarrollo de la TC y la RM, ya que su evolución está estrechamente vinculada a las técnicas de imagen. Los avances en informática permitieron mejorar también los sistemas de planificación, optimizando el uso de imágenes y acelerando los cálculos dosimétricos (Ganz 2011). Otras mejoras tecnológicas, sobre todo en sistemas de posicionamiento del paciente, empleando una camilla que se mueve de forma programada a las coordenadas estereotácticas, y la última de ellas que ha consistido en la incorporación de las fuentes a planchas móviles dentro de la unidad gamma, permiten una excelente conformación de los tratamientos, una reducción del tiempo de aplicación de los mismos y una mayor radioprotección y comodidad para facultativos y el paciente (Martínez 2012).



**Figura 12:** Cortesía del servicio de Radiocirugía del Hospital Ruber internacional.

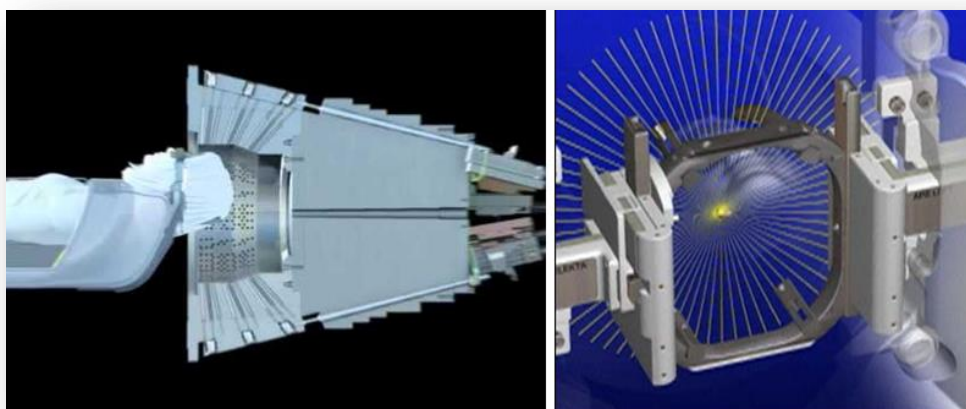
La GK emplea una fuente de  $^{60}\text{Co}$  distribuyendo la energía en 201 o 192 haces, según los modelos. Esta gran cantidad de haces de irradiación permite un alto gradiente de dosis entre el objetivo y su periferia, lo que permite el empleo de una alta dosis en una única sesión sin causar toxicidad en los tejidos circundantes al tratado. Para ello es necesaria una alta precisión, por lo que se basa en la localización estereotáctica con la colocación de un marco diseñado por Leksell. (Ganz 2011)

La máquina tiene 192 fuentes de cobalto que producen 192 haces de radiación, que se coliman con diferente tamaño para irradiar la diana terapéutica que ha de estar colocada en el punto de confluencia de los mismos (isocentro). Ese isocentro ha sido previamente determinado mediante la planificación del tratamiento, teniendo en cuenta las imágenes obtenidas mediante RM. Para ello la máquina dispone de una consola con el software o programa Leksell gammaplan® (Elekta Instruments AB, Stockholm) (Ganz 2011).

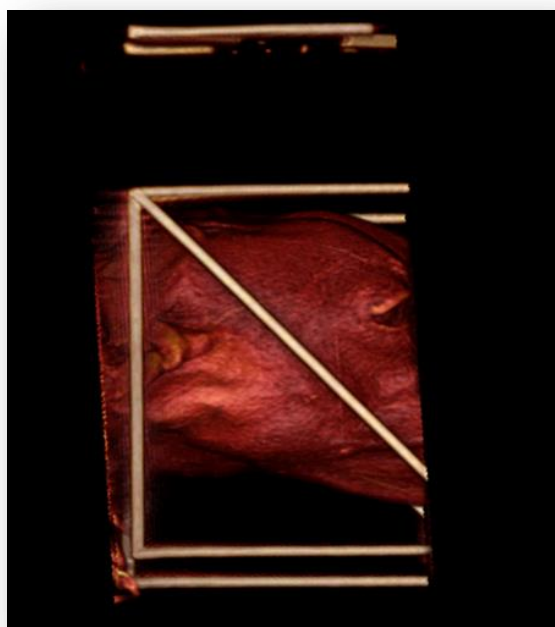
#### 4.5.4.2. Descripción del procedimiento

La cabeza está compuesta por una cubierta externa dura y resistente, el cráneo, haciendo que algunas zonas del cerebro sean de difícil acceso, no solo por ese recubrimiento óseo, sino porque el tejido cerebral es muy sensible y tolera muy mal el empleo de separadores y retractores empleados habitualmente en la cirugía de los tejidos blandos. Esta característica hizo que se desarrollasen las técnicas estereotáxicas mencionadas, con el fin de poder acceder a las zonas más cercanas a la base del cráneo y menos accesibles, sin causar daños irreparables en regiones cerebrales sanas.

Estos dispositivos estereotácticos son unos “marcos” (fig. 13) que se fijan mediante tornillos a la cabeza y que llevan grabado un sistema de medidas en las tres dimensiones del espacio que permite establecer la situación espacial del área a tratar respecto de un eje cartesiano tridimensional (X, Y, Z), de tal manera que cada punto del cerebro puede ser precisamente definido en el espacio con respecto a esos ejes. El marco se acopla a los localizadores: unas cajas plásticas abiertas que llevan unos marcadores fiduciales. Estos marcadores son hilos de cobre en la TC y en la RM son unos conductos finos llenos de una solución de sulfato de cobre (en proporción 5/1000), correspondiendo a puntos hiperintensos en todas las series. Los fiduciales vistos en la TC y la RM son tres líneas unidas entre sí en forma de N. El sistema de planificación determina la localización espacial de cualquier coordenada mediante el cálculo de distancias en función de esos marcadores (Ganz 2011).



**Figura 13:** izquierda esquema del paciente en el interior de la GK. A la derecha el marco estereotáctico que provee de las coordenadas al sistema.



**Figura 14:** reconstrucción volumétrica de un estudio de RM donde se aprecian las marcas fiduciales en blanco.

Una vez realizado el estudio por imagen en condiciones estereotácticas se traslada al ordenador de planificación. Allí se procede a delimitar la lesión a tratar y a continuación se calculan las posiciones de irradiación denominadas "disparos" que se van colocando como "esferas" cubriendo toda la lesión, existen tres tipos de colimadores: de 16 mm, 8 mm y 4 mm, que se pueden combinar haciendo las mencionadas esferas de diferentes tamaños y formas. Calculan una dosis máxima puntual y la dosis en periferia

que cubre de forma precisa la lesión y suele corresponder entre 50% - 70 % de la dosis máxima puntual. También calculan la dosis que debe llegar a las estructuras de riesgo periféricas, que en este caso son: Los nervios ópticos y el quiasma óptico, los pares oculomotores y el tallo hipofisario. Cuando están hechos todos los cálculos se coloca al paciente en la mesa de tratamiento de Gamma knife y se fija la cabeza utilizando el marco que tiene fijo el paciente a su cabeza. El sistema desplaza automáticamente al paciente a las diferentes posiciones de radiación tras introducirle en la luz de la Gamma Knife. Una vez terminado el tratamiento, se retira la base estereotáctica y el paciente puede irse de alta al cabo de una hora.

# Material y métodos

---



### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 1. Animales

Los perros incluidos en el estudio fueron seleccionados en la consulta de endocrinología del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid (UCMC), remitidos desde clínicas externas al propio Hospital Universitario. Fueron reclutados 13 animales de ambos sexos (8 hembras, de las cuales 6 estaban esterilizadas, y 5 machos, 2 de ellos castrados), pertenecientes a distintas razas: 2 Bóxer, 1 Yorkshire, 1 Lasha apso, 2 Cocker spaniel, 1 Husky siberiano, 1 Spaniel bretón, 1 Caniche, 3 Mestizos y 1 Schnauzer miniatura.

El estudio tuvo la aprobación del Comité de Ética de Experimentación Animal de la Universidad Complutense de Madrid.

Los criterios para la inclusión fueron los siguientes: una edad igual o menor a 13 años, un diagnóstico de hiperadrenocorticismismo hipofisario obtenido mediante un protocolo de certeza diagnóstica completo, que incluía analítica sanguínea (hemograma y bioquímica) y urinaria, ecografía de abdomen y pruebas de estimulación/inhibición hormonal. El criterio de exclusión del estudio fue la presencia de enfermedades concurrentes graves (insuficiencia renal, cardíaca, diabetes mellitus, entre otras) con el fin de evaluar adecuadamente la evolución tras el tratamiento realizado mediante la radiocirugía.

La edad media de los animales en el momento del diagnóstico fue de 10 años, situada en un intervalo entre los 7 y los 12 años. En cuanto a la edad en que fueron sometidos a tratamiento los animales mostraban una media de 10,38 años ( $\pm$  desviación estándar de 1,39 años), con la siguiente representación por edades: 8 años (n=3), 9 años (n=3), 10 años (n=2), 11 años (n=4), 12 años (n=1).

#### 2. Protocolo diagnóstico de hiperadrenocorticismismo

##### 2.1 Historia y examen físico

A todos los pacientes se les realizó una historia clínica completa, incluyendo la descripción de los síntomas como poliuria/polidipsia, polifagia, alopecias o incremento de la caída de pelo, dermatitis, polifagia, pressing, movimientos en círculos, quejidos, deambulación sin rumbo,



actitud general y estado de ánimo. En todos los casos se obtuvo información sobre la existencia de otras enfermedades concurrentes y la ingesta de medicamentos pautados.

Tras la anamnesis se llevó a cabo un examen físico completo evaluando la actitud, la postura corporal y la marcha, el peso y la condición física categorizada empleando el índice de puntuación corporal 1-9/9 (Tams 2003), el pulso femoral y la temperatura rectal, el aspecto de la piel y pelo, anotando la presencia o no de alopecias, dermatitis, eritemas, calcinosis cutis y otras lesiones dérmicas. También se valoró el grado de hidratación, el estado de las mucosas de la cavidad oral; se efectuó una auscultación cardíaca y pulmonar, se evaluó por palpación el estado de los ganglios linfáticos explorables y se realizó una palpación abdominal.

Además se exploraron la propiocepción y las reacciones posturales. También se llevaron a cabo exploraciones neurológicas de los pares craneales cercanos a la hipófisis para evaluar si existía un efecto masa en esta localización. En las exploraciones neurológicas se valoró la simetría en la orientación de los globos oculares (III, IV y VI pares craneales), la respuesta al test de la amenaza (II par), el reflejo palpebral (vía eferente o sensitiva de la rama oftálmica del V par craneal), el reflejo pupilar (II y III pares) y el reflejo corneal (vía sensitiva del V par, que incluye en la respuesta a la vía motora del VII par craneal). Además se valoró la presencia o la ausencia de alteraciones sugerentes de alteración hipotalámica, presentes en algunos casos en fases más avanzadas, caracterizadas por la existencia de adipsia, anorexia, aletargamiento o la incapacidad para mantener la termorregulación.

## **2.2. Pruebas complementarias**

Se les extrajo sangre venosa para realizar una analítica sanguínea completa en la que se incluía: hemograma y bioquímica sanguínea, además de un análisis de orina. Todas estas determinaciones se obtuvieron en el Servicio de Biopatología del HCVC. En todos los casos se efectuó un estudio ecográfico abdominal para evaluar el tamaño y la textura de las glándulas adrenales, la presencia/ausencia de masas adrenales, así como la ecogenicidad y tamaño de los órganos abdominales. La exploración ecográfica se llevó a cabo en el Servicio de Diagnóstico por Imagen del HCVC.

A todos se les efectuó un estudio electrocardiográfico.

### **2.2.1. Confirmación del diagnóstico de hiperadrenocorticismio**

El diagnóstico de HAC se efectuó en la totalidad los perros mediante el test de estimulación con ACTH y el cociente cortisol /creatinina urinario.

El cociente cortisol/creatinina urinario se obtuvo de dos muestras de la primera orina de la mañana conseguida por micción espontánea durante dos días consecutivos, y se calculó el valor medio de los dos cocientes. La prueba de estimulación con ACTH se efectuó empleando ACTH sintética (nuvacthen depot®) a 5 mcg/kg. en inyección intramuscular, determinando los niveles de cortisol antes y a la hora de su administración. En 2 casos en que los resultados de la estimulación eran dudosos se efectuó la prueba de supresión con dexametasona a dosis bajas. En esta prueba se procedió a la determinación de los niveles de cortisol basal, a las 4h y a las 8h tras la administración de 0,01 mg/kg de fosfato sódico de dexametasona.

Empleando los protocolos diagnósticos señalados previamente se confirmó en todos los animales la presencia de hiperadrenocorticismo de origen hipofisario (HACH). En un caso, además, se aportaba un estudio mediante resonancia magnética en el que se visualizaba un macroadenoma hipofisario. Este paciente había sido diagnosticado previamente de HAC, si bien en el momento de su inclusión en el estudio mostraba hipocortisolismo provocado por el tratamiento con trilostano.

Una vez corroborado el diagnóstico de HAC a todos se les pautó medicación específica con trilostano en dosis que variaban entre 30 mg/12 horas y 120 mg/12h. Este medicamento se retiró 5 días antes del tratamiento con radiocirugía para obtener los niveles basales hormonales y para observar la evolución clínica en los primeros días tras el tratamiento radioquirúrgico.

### **3. Consentimiento informado del propietario**

Tras obtener un diagnóstico concluyente de HACH, y comprobar que cumplían con los requisitos para su inclusión en el estudio y su tratamiento mediante radiocirugía, se puso en conocimiento de sus propietarios las posibilidades terapéuticas mediante tratamiento médico y la opción de ser incluidos en el ensayo clínico para efectuar el tratamiento radioquirúrgico con Gamma Knife (RCGK). Todos los dueños que accedieron a participar en el estudio fueron informados detalladamente y por escrito. Se les explicó el procedimiento, las posibles complicaciones, tanto anestésicas, como post-tratamiento, y la evolución posterior que se podría esperar tras el mismo, teniendo en cuenta los datos existentes en medicina humana con el empleo de la RCGK y los referentes a la radioterapia convencional en medicina veterinaria. Asimismo, se comprometían a una serie de visitas y revisiones periódicas y regladas.

Además debían firmar un consentimiento informado del procedimiento anestésico, de la utilización de contraste en las técnicas de resonancia y la aceptación de los posibles efectos

secundarios de la radiocirugía. Fueron puestos en conocimiento que deberían abonar los costes de la RM y la anestesia.

Finalmente firmaron un consentimiento comprometiéndose a donar el cuerpo de sus mascotas en el momento en que se produjese el deceso, lo que nos permitiría obtener un análisis macroscópico e histopatológico de la hipófisis, el diencefalo, el hipotálamo, las adrenales y el resto de vísceras en general. (Anexos I y II)

Los tratamientos mediante RCGK se llevaron a cabo en un único día, incluyendo la realización de las pruebas diagnósticas (en este caso RM), planificación e irradiación, lo que reduce los costes y los riesgos anestésicos.

#### **4. Procedimiento de Resonancia Magnética y Tratamiento de radiocirugía**

El tratamiento y la RM se llevaron a cabo en el Hospital Ruber Internacional de Madrid, gracias a las autorizaciones del Comité de Ética del Hospital y de los Servicios de Diagnóstico por Imagen y del Servicio de Radiocirugía. Los procedimientos se realizaron fuera del horario habitual en el que se efectuaban los tratamientos de los pacientes humanos.

Para llevarlos a cabo se contó con un equipo multidisciplinar, constituido por un radiólogo, un técnico de radiología, un neurocirujano, un radioterapeuta y un físico de sistemas hospitalarios, todos ellos pertenecientes al Hospital Ruber Internacional; junto con tres veterinarios al cargo de la anestesia y del cuidado médico de los pacientes.

El día que se iba a realizar el procedimiento todos los animales fueron previamente sometidos a una anamnesis y un examen físico completo y a una toma de muestra sanguínea en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid. En esta visita se comprobó que el medicamento trilostano había sido retirado previamente y que los perros estaban en condiciones clínicas adecuadas para ser sometidos a anestesia. Posteriormente se trasladaban al hospital Ruber internacional donde se efectuaba todo el procedimiento de anestesia para mantener al paciente inmovilizado, permitiendo la colocación del marco estereotáctico, la obtención de las imágenes mediante RM, la planificación y finalmente el tratamiento en la RCGK.

##### **4.1. Procedimiento anestésico y premedicación**

Con el fin de mantener al animal inmovilizado durante el tiempo necesario para la adquisición de las imágenes diagnósticas y las necesarias para la planificación del tratamiento

radioquirúrgico en el equipo de resonancia se administró un protocolo anestésico como se describe a continuación:

Se administró una premedicación con dexmedetomidina (3mcg/kg) y metadona (4mg/kg) en inyección intramuscular. Posteriormente, a los 20-30 minutos, se llevó a cabo la inducción anestésica con propofol (2 mg/kg IV) o alfaxalona (1mg/kg IV). La elección de uno o de otro se realizaba en función de la analítica realizada previamente y de los antecedentes médicos, sobre todo en aquellos casos en los que habían existido cuadros previos de pancreatitis. Una vez alcanzado el efecto se efectuaba la intubación orotraqueal. El mantenimiento del plano anestésico se obtuvo con sevoflurano y oxígeno al 100% (FeSEV 2-2,5%).

Los animales se mantenían con una vía intravenosa para la infusión de suero ringer lactato hasta terminar el procedimiento, con una dosis de 3ml/kg/h.

Durante todo el proceso los animales estuvieron monitorizados mediante ECG, presión arterial por método oscilométrico, temperatura, saturación de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> espirado y la fracción espirada de sevoflurano.

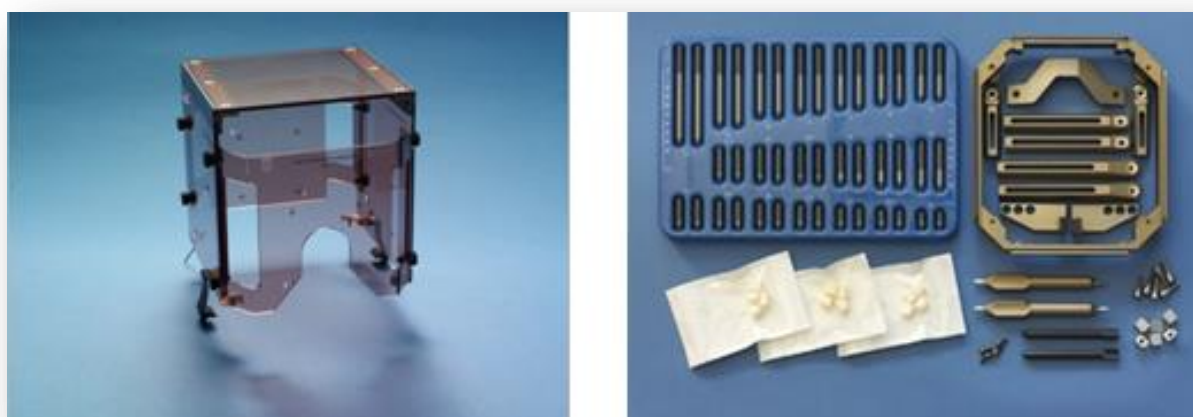
En solo dos casos, por problemas de logística debidos a la colocación del marco estereotáctico, fue necesario mantener el plano anestésico durante un corto periodo de tiempo mediante infusión con propofol.

#### **4.2. Colocación del marco estereotáctico**

Para poder llevar a cabo el tratamiento con radiocirugía es necesario mantener la cabeza del animal siempre en la misma posición, tanto en la RM como en la RCGK. Con este objetivo es necesaria la colocación de un marco de esterotaxia sobre el que se dispone el casco de estereotaxia que nos aporta las coordenadas del tejido a tratar. Este conjunto marco-casco ha de instalarse antes de realizar el estudio de RM para que en todas las imágenes aparezcan las marcas fiduciarias que permitirán definir las coordenadas de cualquier punto intracraneal en el sujeto. Sin embargo, los marcos que se utilizan habitualmente están diseñados para ser situados sobre cabezas humanas, a las que se fija mediante unos tornillos en la frente y en la región parietal posterior uu occipital (figura M1). Este método de sujeción no era el idóneo para los pacientes del estudio debido a las diferencias anatómicas del cráneo, por lo que hubo que diseñar un dispositivo específico para el cráneo de nuestros pacientes.

Inicialmente se desarrolló una tabla a escala partiendo de un diseño realizado para un estudio con roedores, empleado como material nylon para evitar artefactos en el estudio

mediante resonancia magnética. La construcción se llevó a cabo en el taller mecánico de la Universidad Complutense de Madrid, y tras la realización de varias pruebas tuvo que ser desechada al producirse vibraciones indeseadas en el marco que no permitían asegurar su fiabilidad, siendo esta necesaria para alcanzar la mayor precisión en el tratamiento. Por ello hubo que rediseñar un nuevo dispositivo, más versátil, ya que permitía acoplarse a cualquier tamaño de cabeza y animal mediante el uso de una manta de vacío de cirugía acoplada a ella, de tal manera que cuerpo y cabeza se inmovilizaban solidariamente sin provocar movimientos que pudieran cambiar las citadas marcas fiducias.



**Figura M1.** A la izquierda el casco con las marcas fiducias que se coloca sobre la cabeza unido al marco estereotáctico, A la derecha todas las medidas de tornillos disponibles para fijar el marco a la cabeza de los pacientes.

En este segundo modelo el marco se fijó mediante abrazaderas sobre una tabla que se almohadillaba con sábanas (figura M2), según se observa en la fotografía. En los perros más pequeños, y para mantener la cabeza en el centro del marco se realizaba un almohadillado con espuma, tal como se observa en la imagen (figura M3). Al igual que en los paciente humanos el marco se anclaba al cráneo mediante tornillos aunque en localizaciones distintas, ya que los perros carecen prácticamente de frente y su órbita no está completamente cerrada como la humana (figura M4).

En este procedimiento era muy importante colocar bien centrado el marco con respecto a la lesión para asegurar que las coordenadas obtenidas fueran accesibles cuando se introducía al paciente en la RCGK. La correcta fijación del marco al cráneo

garantizaba que no hubiera lesiones indeseadas en las zonas sanas y que la radiación prescrita llegase al tejido diana de nuestro tratamiento.

Una vez que los animales se encontraban medicados e intubados se colocaban en este dispositivo para obtener en primer lugar el estudio en la RM y la toma de coordenadas y posteriormente la RCGK (figuras M5, M6, M7). En estos procedimientos resulta clave que el sujeto y el marco estereotáctico se mantengan inmovilizados durante el transporte de un equipo a otro. La fijación del marco al cráneo es lo que garantiza que cualquier punto dentro del mismo se encuentra siempre en las mismas coordenadas, tanto durante la RM como durante el tratamiento.

Tras colocar el marco, se procedió a la toma de medidas del contorno craneal. El sistema precisa conocer la profundidad del isocentro (zona de confluencia de los haces en el tejido a tratar) que utilizará en relación a cada haz de tratamiento a fin de calcular la atenuación de los fotones en función del tejido atravesado y calcular el tiempo de irradiación necesario para la liberación de la dosis prescrita. También era necesario conocer estas distancias para prever posibles colisiones de la cabeza o del marco con las paredes internas de la unidad. Todo el procedimiento resultó un poco más laborioso que el rutinario en pacientes humanos, dado que el sistema está diseñado para adaptarse al contorno del cráneo humano.

Una de las premisas era marcar sobre la imagen obtenida por RM la zona diana a tratar, en nuestro caso el tejido hipofisario, así como definir el contorno de los órganos de riesgo. Una vez obtenidos estos datos se estableció la dosis de prescripción. El propio programa informaba sobre la dosis que recibirían cada uno de los tejidos y determinaba que haces era necesario bloquear para evitar lesionar el cristalino y otras estructuras más sensibles.

El equipo empleado tiene una gran exactitud mecánica, según sus especificaciones técnicas su exactitud mecánica tiene un error menor a 4 mm y una reproducibilidad de menos de 0,1 mm. Periódicamente se comprueba que esta exactitud se mantenga.



**Figura M2.** 2º modelo diseñado para fijar el marco estereotáxico sin almohadillar completamente para observar mejor su composición.



**Figura M3.** Uno de nuestros pacientes a punto de entrar en la RCGK. Se aprecia el almohadillado con espuma en la cabeza.



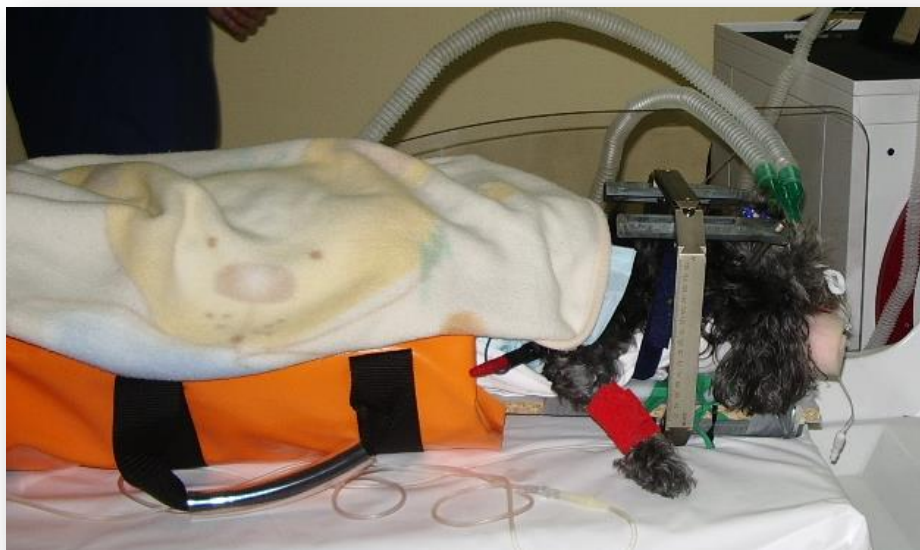


**Figura M4.** A la izquierda detalle del procedimiento de fijación del marco para sujetar el casco en los pacientes humanos. En el centro detalle de los tornillos. A la izquierda uno de nuestros pacientes colocado ya sobre la tabla y con el marco atornillado para recibir el casco estereotáctico.



**Figura M5.** Manta de vacío (color naranja) que está unida solidariamente a la tabla, unida a su vez al marco estereotáctico. Todos los elementos se unen a los pacientes para evitar movimientos durante los procedimientos.





**Figura M6.** Paciente colocada en la manta de vacío (color naranja) que mantiene unida la tabla, la paciente y el marco estereotáctico.



**Figura M7.** Detalle del casco de estereotaxia que va unido al marco que se atornilla a la paciente.

#### 4.3. Resonancia magnética (RM)

El estudio de resonancia magnética se efectuó en un equipo de RM de la marca General Electric Signa Excite de 3Teslas HDXT.

Tras obtener secuencias localizadoras en los tres planos del espacio (axial, sagital y coronal), se realizó un estudio volumétrico potenciado en T1 SPGR (spoiled gradient recalled) en los planos axial y coronal, y en los mismos planos con secuencias potenciadas en T2 FSE (fast espín eco). Tras la administración de contraste paramagnético, gadobutrol 1mmol/ml (Gadovist®), a base de gadolinio, efectuamos un estudio dinámico para facilitar el diagnóstico de microadenomas, volumétrico potenciado en T1 (3DT1) y cortes FSE T1. En el ANEXO III se aportan los datos técnicos de las técnicas realizadas. El estudio volumétrico (3DT1) es muy útil para evaluar pequeñas estructuras como la hipófisis. Tras la inyección de un medio contraste se realizó la adquisición de imágenes muy finas (< 1 mm) sin espaciado entre ellas para poder obtener una reconstrucción multiplanar en la estación de trabajo con orientación 3D en los planos (Dewey y da Costa 2015). La información diagnóstica obtenida mediante las imágenes en T1 y T2 se complementó con el estudio dinámico que aportaba los patrones de captación de la glándula hipofisaria.

Las imágenes se enviaron telemáticamente a la estación de trabajo de la RCGK, lo que permitió procesarlas para la planificación del tratamiento mediante el programa Leksell Gamma plan® (LGP).

En todas esas imágenes quedaron visibles las marcas fiduciarias incluidas en el marco estereotáctico y que permitían determinar las coordenadas de las zonas patológicas a tratar.

El tiempo aproximado de permanencia del animal en el aparato de resonancia magnética fue de unos 45 minutos aproximadamente.

Debido a que en la antena receptora debía incluirse el marco estereotáctico se optó por una antena de cabeza en vez de la antena de rodilla que hubiera dado una mayor calidad de las imágenes (figura M8). No obstante, estas mantenían una calidad aceptablemente alta en comparación con las procedentes de equipos de bajo campo magnético.

Posteriormente las imágenes obtenidas se procesaron para obtener datos sobre la volumetría de las lesiones hipofisarias en el programa LGP anteriormente mencionado.

Tal y como consta en el consenso sobre diagnóstico de HAC, se consideraron macrotumores hipofisarios a aquellos que fueran iguales o mayores de 10 mm; mientras que los tumores inferiores a esta medida fueron considerados como

microadenomas (Behren y col. 2013). La segunda opción para la clasificación es la realización del índice P/B (altura de la hipófisis/área cerebral en el mismo plano coronal  $\times 10^{-2}$ ), que se obtiene en los cortes coronales midiendo la altura de la hipófisis y realizando la medida del área cerebral. Se dibuja con la herramienta de medida del programa el perímetro del cerebro en la misma imagen donde la hipófisis presenta su mayor diámetro ventrodorsal, obteniéndose automáticamente con el programa de la estación de trabajo la altura glandular y el área cerebral. La discriminación entre macroadenoma y microadenoma con este índice señala que cualquier lesión con un valor  $> 0,31 \times 10^{-2}$  corresponde a un macroadenoma (Kooistra y col. 1997). La tercera opción considera macroadenoma a toda neoplasia que en las imágenes sagitales superen la línea trazada desde las apófisis clinoides anteriores y el tubérculo sellar al dorsum sellae (Kippenes y col.2001).



**Figura M8:** Colocación de la antena para realizar el estudio mediante RM una vez colocado el casco estereotático.

#### **4.4. Procedimiento de radiocirugía**

El tratamiento se efectuó en un equipo de la marca Leksell y modelo Gammaknife perfection®. Fue planificado empleando las imágenes obtenidas de la RM, trasladadas a la estación de trabajo en la que se encuentra el programa informático Leksell gamma plan.

Para la planificación se realizaron los siguientes pasos:

1. Delimitación del volumen blanco: adenoma o hipófisis en caso de microadenomas no visibles.
2. Delimitación de estructuras de riesgo: Una vez obtenidas las imágenes, se llevó a cabo la planificación del tratamiento radioterápico evitando que las vías ópticas, el tálamo, hipotálamo y diencéfalo, así como los pares III, IV, V y VI, recibieran una dosis tóxica de radiación. Para ello se tuvieron en cuenta las dosis de tolerancia de las vías ópticas, ligeramente más bajas que el resto de los pares craneales, teniendo en cuenta su proximidad a la glándula.

En todos los casos la dosis administrada se estableció valorando el riesgo/beneficio, intentado evitar la probabilidad de causar ceguera por radiotoxicidad sobre las vías ópticas (nervio óptico, quiasma y cintillas ópticas).

3. Dosimetría:
  - Prescripción de la dosis de cobertura: 25 - 35 Gy, en función de la proximidad de la vía óptica y el tamaño tumoral.
  - Elección de la isodosis de cobertura (dependiente del tamaño y morfología de la lesión), eligiendo siempre la más alta posible.
  - Modulación mediante bloqueo de los haces que fuera necesario para la protección de la vía óptica y cristalinos. El número de haces confluentes sobre el blanco, salvo bloqueo cuando fue necesario, es de 192 haces isocéntricos.
  - La cobertura del volumen se realizó mediante los isocentros que fueron necesarios y utilizando los distintos tamaños de colimadores disponibles que se adaptasen a la morfología y volumen a cubrir (4 mm, 8 mm, 14 mm y 18 mm)

La dosis calculada se administró en una única sesión. Una vez fijadas las coordenadas de las lesiones obtenidas en la resonancia los animales eran introducidos bajo anestesia y monitorizados en la Gamma Knife donde permanecieron hasta el final del tratamiento, siendo la duración promedio de la sesión de tratamiento de unos 15-20 minutos.

El seguimiento del procedimiento de radiocirugía se efectuó mediante cámaras que mostraban las imágenes de los monitores indicando los parámetros a controlar: índices capnográficos, la saturación de oxígeno, la presión arterial y la frecuencia cardíaca, así como la temperatura del paciente (figuras M9 y M10).



**Figura M9.** A la izquierda la imagen del paciente recibiendo el tratamiento vista desde la sala de control. A la derecha detalle del monitor de anestesia visto en la pantalla de ordenador de la sala de control de la RCGK.



**Figura M10.** Monitorización de los animales mediante cámaras tal y como se reciben en la sala de control de la RCGK.



## **5. Postoperatorio**

Tras la finalización del tratamiento se procedió a la retirada de la fijación del paciente y del marco estereotáxico.

Tras la recuperación anestésica los animales se mantuvieron en observación durante 12 horas en el HCVC. Durante ese periodo se administró un antiinflamatorio (meloxicam a dosis de 0,1 mg/kg/24 horas) y un antiemético (metoclopramida a dosis de 0,3 mg/kg/8 h) durante las 48 horas posteriores al tratamiento. El meloxicam se empleó para disminuir el dolor que pudieran causar las heridas realizadas al fijar el marco mediante tornillos. La metoclopramida fue empleada para evitar la aparición de náusea o vómitos, como se ha observado que sucede en personas tratadas empleando esta técnica de radiocirugía. Además, se administró una dosis de cefovecina por vía subcutánea (8 mg/kg) para prevenir infecciones en los puntos en los que se atornilló el marco estereotáxico.

Ocho horas después del tratamiento se les ofreció agua y a las 12 horas se les permitió el consumo de comida (dieta blanda) y se les dio el alta hospitalaria.

## **6. Seguimiento y evolución del hiperadrenocorticismismo**

Tras el tratamiento con RCGK se efectuaron revisiones periódicas en los siguientes momentos:

A la semana, al mes, a los 2 y 3 meses y posteriormente se espaciaron cada 3 meses hasta cumplir los dos años de tratamiento. En cada una de estas revisiones se llevó a cabo una historia clínica, exploración física y analítica sanguínea completa. La analítica fue llevada a cabo por el laboratorio de Biopatología del Hospital Clínico Veterinario de la UCM.

En todos los reconocimientos realizados se guardaron en congelación muestras de plasma heparinizado y obtenido en EDTA y muestras de suero para realizar las determinaciones hormonales.

En estas visitas, y teniendo en cuenta los datos de la RM, los animales se clasificaron en dos grupos, animales con macroadenoma hipofisario y animales con microadenoma. Adicionalmente, según el cuadro clínico, los resultados de las analíticas y de la estimulación con ACTH, los animales se clasificaron en dos grupos:

1.- Animales con sintomatología cuya estimulación con ACTH sea compatible con hiperadrenocorticismismo, con valores de cortisol plasmático tras la estimulación con ACTH igual o superior a 17 µg/dl. En estos casos se inició un tratamiento de apoyo con trilostano.

2.- Animales sin sintomatología de hiperadrenocorticismo y cuya estimulación con ACTH mostró valores de cortisol plasmático postestimulación menores de 17 µg/dl. En estas situaciones no se administró ningún tratamiento.

En todos los casos, en las revisiones, se incluyó en la analítica la determinación de los niveles de T4t y TSH en previsión de que se pudiera desarrollarse hipotiroidismo tras la radiocirugía.

A estas revisiones los animales acudían con el trilostano retirado dos días antes para evaluar la evolución de la funcionalidad adrenocortical debida solo a la radiocirugía. Aquellos que estaban con tratamiento de apoyo con trilostano se citaban de nuevo 1 semana después para valorar la eficacia del tratamiento coadyuvante mediante una estimulación con ACTH con el medicamento ingerido 4-6h antes.

En todos los casos se registró la fecha y la causa de la muerte, bien por eutanasia humanitaria o por muerte natural. De los animales que fallecieron durante el periodo de seguimiento (n= 11), se realizaron necropsias en 4 de ellos. Las necropsias completas, regladas y ordenadas, permitieron la toma de muestras de todas las glándulas, vísceras abdominales y tejidos en los que se observaron alteraciones macroscópicas, así como del diencéfalo y el quiasma óptico, por ser estructuras próximas a la hipófisis radiada, con el fin de observar posibles anomalías producidas por la radiación.

## **7. Determinaciones hormonales**

En todos los casos incluidos se determinaron los niveles de las siguientes hormonas: hormona adrenocorticotropa (ACTH), hormona antidiurética (ADH), hormona estimulante de los melanocitos ( $\alpha$ -MSH), prolactina (Prl), hormona luteinizante (LH) y factor similar a la insulina 1 (IGF1). Estas determinaciones se realizaron previamente al tratamiento, así como al mes, a los 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses tras el tratamiento.

La técnica empleada en todas las determinaciones fue la técnica de ELISA, salvo la determinación de  $\alpha$ -MSH que se efectuó mediante fluorescencia. La determinación se realizó en plasma de muestras sanguíneas obtenido en EDTA. Se emplearon kits comerciales específicos para cada hormona, tal como se detalla a continuación:

**ACTH:** ACTH (human) EIA kit con referencia EK-001-01 de Phoenix Pharmaceuticals Inc. con un rango de detección de 0 a 25 ng/ml.

**ADH:** Vasopressin (AVP) (Arg8) (human, rat, mouse and ovine) EIA Kit con referencia EK-065-07 de Phoenix Pharmaceuticals Inc. con un rango de detección de 0,07 a 100 ng/ml.

**$\alpha$ -MSH:** MSH alpha (human, rat, mouse) EIA Kit con referencia EK-065-07 de Phoenix Pharmaceuticals Inc. con un rango de detección de 0 a 100 ng/ml.

**Prl:** prolactin canine ELISA Kit con referencia DEV9944 de Demeditec Diagnostics Co. con rango de detección entre 0,4 y 300 ng/ml.

**LH:** LH canine ELISA kit con referencia DEERKC2011 de Demeditec Diagnostics Co. Con un rango de detección mínimo de 1 ng/ml.

**IGF1:** ELISA Kit for Insulin Like Growth Factor 1 (IGF1), específica para Canis familiaris (perro). De Wuhan USCN Business Co. Ltd. Con un mínimo de detección de 2,42 ng/ml.

Para todas las determinaciones hormonales se establecieron los rangos de referencia empleando Beagles de edades entre 5 y 10 años del animalario que estaban libres de enfermedades (n=10).

Todas las determinaciones eran específicas de la especie canina, excepto las determinaciones de ADH (Humano, rata, ratón y ovino), ACTH (humana) y  $\alpha$ -MSH (Humano, rata y ratón). Teniendo en cuenta que la secuencia aminoacídica de la ACTH es igual para todas las especies y que la  $\alpha$ -MSH es un péptido compuesto por los primeros 13 aminoácidos con la misma secuencia que la ACTH (Catania y col. 2010), se considera que la capacidad de detección de dichas hormonas es similar para las distintas especies. En cuanto a la vasopresina es un oligopéptido de 9 aminoácidos que mantiene su secuencia exactamente igual en humanos, perros, gatos, vacas, ratones y ratas, (Dos Santos y col. 2007), dato que indica que el kit puede determinar por reacción cruzada la AVP de todas las especies mencionadas.

Para inferir los niveles plasmáticos de hormona de crecimiento se determinaron los del factor de crecimiento similar a la insulina 1 o somatomedina C (IGF 1), que se correlacionan de forma positiva con los niveles de hormona de crecimiento y cuya determinación es más sencilla (Rijnberk y Koositra 2010)

Se eligieron kits de ELISA por la disponibilidad de lectura en el laboratorio de fisiología de la Facultad de Veterinaria de Madrid y lector de fluorescencia en el departamento de Nutrición y Bromatología de la misma Facultad.

## **8. Estudio estadístico de los datos**

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa R 3.1.2 (R Core Team, 2014) y el paquete lme4 (Bates et al, 2015). La relación entre los niveles de hormonas, el tiempo transcurrido



desde el tratamiento y el tamaño del adenoma se estudió por medio de una serie de modelos lineales de efectos mixtos. Este tipo de modelos permite analizar conjuntos de datos con medidas repetidas y valores perdidos, como ocurre en este caso. Como variables fijas se incluyeron el tiempo en días y el tamaño del adenoma codificado en dos categorías (macroadenoma y microadenoma). Como variables aleatorias se incluyó únicamente el intercepto de los distintos sujetos. La inspección visual de los residuales no mostró desviaciones evidentes de la homocedasticidad ni la normalidad. La significación estadística del tiempo y el tamaño del adenoma se calculó con el test de razón de verosimilitudes entre los modelos completo y reducido.

### **9. Estudio de necropsia y análisis histológico**

Se realizó la necropsia de 4 animales de manera ordenada, sistemática y completa, anotándose todas las lesiones macroscópicas.

Se tomaron muestras de todas las glándulas, lesiones y vísceras, incluyendo corteza cerebral, cerebelo, diencéfalo y vías ópticas.

Todas las muestras fueron fijadas en una solución tamponada de formol al 10% comercial y enviadas para su procesamiento en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Veterinario de la UCM, siguiendo la metodología rutinaria del laboratorio.

Todas las muestras permanecieron al menos 24 horas a temperatura ambiente en formol tamponado al 10%. Posteriormente se tallaron las muestras viscerales más grandes y las glándulas se dividieron en dos mitades para incluir solo una que incluyera lesiones si las había. Cada una de estas piezas se incluyó en un casete y en parafina sintética mediante el uso de un procesador automático de tejidos Shandon-Elliot (modelo Bench SCE 0400). En este proceso las casetes pasan automáticamente por una serie de soluciones de etanol y benceno en concentración creciente para eliminar los restos de formol y deshidratar los tejidos para favorecer la inclusión en parafina sintética (Histotec® pastillas Merck) a 56-57°. A continuación, se montaron los bloques de tejidos en parafina utilizando una unidad formadora, consola Tissue-Teck® (dispensador de parafina, consola térmica y crioconsola de Miles Specific®).

A partir de los bloques se obtuvieron secciones de tejido en parafina de 4 µm de grosor mediante un micrótopo de rotación (modelo JUNG RM 2155 de Leica®). Para su tinción con hematoxilina y eosina (HE), tricrómico de Masson y tinción para la hipófisis con PAS-Orange G, las secciones se desparafinaron en xilol y siguieron un proceso de deshidratación pasando por una serie de etanoles de gradación decreciente hasta el agua. La deshidratación tras la tinción se realizó de forma inversa, pasando por una serie de alcoholes de grado creciente y xilol. Las preparaciones se montaron con un medio DPX (Surgipath®) y cubreobjetos. Por último se realizó un estudio histopatológico de cada animal.

# Resultados

---



## IV. RESULTADOS

El hiperadrenocorticismismo canino se caracteriza por una serie de signos clínicos y hallazgos analíticos que sirven de base para establecer el diagnóstico de la enfermedad y para evaluar la eficacia del tratamiento.

En este estudio se describen los hallazgos por resonancia magnética de alto campo (3 teslas) de 13 perros diagnosticados de HAC hipofisario que fueron sometidos a tratamiento con radiocirugía hipofisaria con Gamma knife. Se describe la evolución clínica y analítica de los animales durante el seguimiento de los mismos hasta su fallecimiento.

Cuando el HAC es de origen hipofisario, entre un 10-15% de los animales presenta signos y síntomas neurológicos por el efecto de compresión que producen sobre las estructuras adyacentes los tumores de gran tamaño o macroadenomas. El seguimiento de los perros con HAC en tratamiento se realiza teniendo en cuenta la sintomatología característica de la enfermedad, como presencia o ausencia de PD/PU, polifagia, debilidad, intolerancia al ejercicio, signos dermatológicos, los hallazgos de la analítica sanguínea y la respuesta a la estimulación con ACTH, que es la única prueba hormonal que evalúa la reserva cortical adrenal. En el presente trabajo, además, se efectuaron exploraciones neurológicas de los pares craneales cercanos a la hipófisis para valorar la posible toxicidad del procedimiento radioquirúrgico.

### 1. Animales

La media de edad en el momento del diagnóstico de hiperadrenocorticismismo de los 13 perros incluidos en el estudio fue de  $8,93 \pm 1,5$  años (media  $\pm$  desviación estándar) con un rango entre los 7 y los 12 años. En el momento del tratamiento con Gamma knife la media de distribución por edades correspondía a 8 años (n=3), 9 años (n= 3), 10 años (n=2), 11 años (n=4) y 12 años (n=1).

La distribución de síntomas y hallazgos del examen físico en el momento de la inclusión en el estudio fue la siguiente: presentaban polidipsia y poliuria 12 de 13, polifagia 9 de 13, alopecia 4 de 13, de ellos uno tenía calcinosis cutis y dos eritema y prurito. Once de 13 mostraban distensión abdominal, 12 de 13 Intolerancia al ejercicio, 4 de 13 jadeos y debilidad. El valor medio del peso corporal fue de  $17,86 \pm 10,03$  kg (expresados individualmente en la tabla R1), siendo en su mayoría obesos o con sobrepeso, con un índice de condición corporal de 5/9 (n=1), de 6/9 (n=7) y de 7/9 (n= 5).

Los hallazgos del examen neurológico fueron disminución de la consciencia en 2 de 13 casos, que mostraron además deambular sin rumbo, pressing, apatía y desorientación o desconexión del medio y falta de reactividad. Uno de estos dos perros sufría hipoadrenocorticismismo inducido por el tratamiento con trilostano.

	Signos clínicos	P2	P4	P7	P8	P9	P11	P12
PERROS CON MICROADENOMAS	Peso	8,4kg	29kg	1,8kg	6,6kg	29,3kg	4kg	14,13kg
	Condición corporal	6/9	7/9	6/9	6/9	5/9	6/9	6/9
	PD/PU	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
	Apetito	Polifagia leve	Polifagia leve	Polifagia leve	normal	Polifagia marcada	Normal	normal
	Jadeo	No	No	No	No	Leve	No	No
	Debilidad	Leve	Marcad	Leve	No	Leve	No	No
	Intolerancia Ejercicio	No	Sí	Sí	No	No	No	No
	Actitud	Decaída	Decaída	Buena	Buena	Decaída	Buena	Buena
	Dermatológ.	Pelo mate Piel fina	No	Alopecia flancos Piel fina	Pelo mate	Alopecia Eritema Piel fina	Alopecia Prurito	No
	Distensión Abdominal	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
	Signos SNC	No	No	No	No	No	No	No
	Vista	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	Reflejo Amenaza	+	+	+	+	+	+	+
	Reflejo pupilar	+	+	+	+	+	+	+

**TABLA R1.** Síntomas y hallazgos del examen físico en perros que fueron diagnosticados de microadenoma hipofisario según los hallazgos de la RM.

PERROS CON MACROADENOMAS	Signos clínicos	P1	P3	P5	P6	P10
	Peso	22kg	9,8kg	32,5kg	14kg	28,6kg
	Condición corporal	7/9	7/9	7/9	6/9	6/9
	Pd/PU	Sí	Sí	Sí	Sí	No
	Apetito	Polifagia marcada	Polifagia marcada	Polifagia leve	Polifagia marcada	Normal
	Jadeo	No	Sí	No	Sí	No
	Debilidad	Leve	Marcada	Marcada	Leve	Marcada
	Intolerancia Ejercicio	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
	Actitud	Decaído	Decaída	Decaído	Decaído	Decaído
	Dermatológicos	Pelo no crece	Pelo mate Piel fina	Alopecia Dorso Calcinosis cutis	Alopecia Pelo mate	No
	Distensión Abdominal	Sí	Sí	Sí	Sí	No
	Signos SNC	Llanto	Letargia Deambular sin rumbo	Estupor Letargia	Llanto	Letargia Llanto Deambula sin rumbo
	Vista	Bien	Bien	Bien	Bien	Bien
	Reflejo Amenaza	Lento OI	+	+	+	Lento
	Reflejo pupilar	Lento OI Consensuado	+	+	+	+

**TABLA R2.** Síntomas y hallazgos del examen físico en perros que fueron diagnosticados de macroadenoma hipofisario según los hallazgos de la RM.

Los hallazgos más relevantes de la analítica sanguínea y urinaria se resumen en la tabla R3.

En el estudio ecográfico del abdomen se observó hiperplasia adrenal bilateral (grosor de los lóbulos > 7 mm) en 10 de los 13. En un caso el tamaño de las glándulas adrenales era normal y en otro era reducido (grosor de lóbulos < 5 mm). Se observó hepatomegalia con hiperecogenicidad del parénquima en 8 de 13. No se apreciaron otros hallazgos significativos ecográficamente.

Hemograma <b>Hematocrito</b> <b>Hemoglobina</b> <b>Leucocitos totales</b> <b>Plaquetas</b>	<b>Media <math>\pm</math> DE (rango)</b> 47,20 $\pm$ 7,01 (35 %-55,7%) 16,17 $\pm$ 2,31 (12,5g/dl -19,2 g/dl) 8,24 $\pm$ 2,25 $\times 10^3$ (6,1 $\times 10^3$ - 11,7 $\times 10^3/\mu$ l) 421,77 $\pm$ 180,8 (258 – 758 $\times 10^3/\mu$ l)
Bioquímica sanguínea <b>Proteínas totales (g/dl)</b> <b>ALT (UI/L)</b> <b>Fosfatasa alcalina (UI/L)</b> <b>Colesterol (mg/dl)</b> <b>Creatinina (mg/dl)</b> <b>Urea (mg/dl)</b> <b>K (mg/dl)</b> <b>Ca (mg/dl)</b>	7,13 $\pm$ 1,12 (4,9 - 8,5) 120,08 $\pm$ 69,73 (32 - 260) 526 $\pm$ 614,58 (51 - 2058) 400,33 $\pm$ 117,26 (250 - 654) 0,78 $\pm$ 0,24 (0,5 - 1,1) 37,23 $\pm$ 15,53 (19 - 71) 4,31 $\pm$ 0,47 (3,7 - 5,4) 9,17 $\pm$ 0,72 (8 -10,9)
Análisis de orina <b>Cociente cortisol/creatinina</b> <b>Densidad</b> <b>Proteínas (mg/dl)</b> <b>Glucosa</b> <b>Cuerpos cetónicos</b> <b>Bilirrubina</b> <b>Urobilinógeno</b> <b>Sangre</b>	1551,78 $\pm$ 4563,8 $\times 10^{-6}$ (48,12- 16031,51 $\times 10^{-6}$ ) 1.016 $\pm$ 15,65 (1.002-1.048) 35,00 $\pm$ 10,00 (30,0 $\pm$ 50,0) Negativo Negativo Negativo Negativo Negativo

TABLA R3. Hallazgos en la analítica de los perros del estudio antes del tratamiento.

## 2. Diagnóstico de hiperadrenocorticismismo

En todos los perros incluidos se realizó la prueba de cortisol/creatinina en la orina y estimulación con ACTH, y en dos casos se efectuó una supresión con dexametasona a dosis bajas. Los resultados de las pruebas de función adrenal se muestran en la tabla R4.

Pruebas	Perros	Resultados
<b>Estimulación con ACTH</b> Cortisol basal (µg/dl) Cortisol post ACTH (µg/dl)	<b>n=13</b>	<b>Media ± DE (rango)</b> 4,42 ± 1,28 (2,43-5,92) 26,93 ± 7,23 (20,2-45,9)
<b>Cociente cortisol/creatinina Urinario</b>	<b>n= 13</b>	<b>Media ± DE (rango)</b> 1568 ± 4558,12 (122,25-16032,51 ×10 <sup>-6</sup> )
<b>Supresión con dexametasona a bajas dosis</b> Cortisol basal (µg/dl) Cortisol 4h (µg/dl) Cortisol 8h (µg/dl)	<b>n= 2</b>	<b>Valores</b>  3,68 /4,8 1,72 /2,6 2,6 /3,2

**TABLA R4.** Resultados de las pruebas de función adrenal en los perros antes del tratamiento

### 3. Hallazgos en la Resonancia Magnética

En el estudio sin contraste en todos los casos se apreció una zona hipertintensa en T1 en la región central, ligeramente dorsocaudal, correspondiente a la neurohipófisis. Existía un patrón de captación homogéneo del tejido glandular en 9/13 perros y un realce heterogéneo en 4/13.

Para la diferenciación entre microadenomas y macroadenomas hipofisarios, en perros, se pueden emplear tres criterios, como se describe en material y métodos. En el presente trabajo se tuvieron en cuenta las recomendaciones del consenso de Behrend y colaboradores de 2013, que definen macroadenoma a tumores hipofisarios con valores superiores o iguales a 10 mm en su eje mayor y, además, se calculó el índice P/B en todos ellos (Kooistra y col 1997) y se comprobó la presencia de extensión supraselar (Kippenes y col 2001).

Empleando el método clásico 5 de 13 casos correspondieron a macroadenomas. Según el método que considera el índice P/B, nuestros hallazgos mostraban que 8 de 13 perros tenían macroadenomas. De estos 8 casos obtenidos por el método de Kooistra, 3/8 presentaban un valor inferior a los 10 mm en su eje mayor y de estos solo 2/8 mostraban una discreta extensión supraselar. En los 13 animales incluidos la altura media de la hipófisis era de 8,4 mm ± 5,5 mm, con un rango de 2,9 a 20,2 mm. En la tabla 5 se muestran las dimensiones de los tumores hipofisarios obtenidos por RM en los perros incluidos en el estudio.

Los microadenomas mostraron un patrón de captación homogéneo con bordes definidos que correspondía a la imagen de una hipófisis normal, si bien dos de ellos presentaban una discreta extensión supraselar. En ninguno de estos 8 animales se observó la presencia de áreas hipointensas que pudieran ser sugerentes de neoplasia.



Perros	Dimensiones de la glándula hipofisaria (cm)			Índice P/B
	Latero-lateral	Dorso-ventral	Antero-posterior	
P1	1,49	1,29	1,55	0,9 x 10 <sup>-2</sup>
P2	0,8	0,59	0,41	0,37 x 10 <sup>-2</sup>
P3	1,08	1,18	1,09	0,82 x 10 <sup>-2</sup>
P4	0,5	0,36	0,54	0,21 x 10 <sup>-2</sup>
P5	1,15	1,44	1,36	0,72 x 10 <sup>-2</sup>
P6	1,12	1,3	1,14	0,86 x 10 <sup>-2</sup>
P7	0,36	0,29	0,39	0,20 x 10 <sup>-2</sup>
P8	0,39	0,35	0,3	0,26 x 10 <sup>-2</sup>
P9	0,52	0,72	0,88	0,41 x 10 <sup>-2</sup>
P10	1,57	2,02	2,24	1,05 x 10 <sup>-2</sup>
P11	0,36	0,35	0,42	0,30 x 10 <sup>-2</sup>
P12	0,98	0,64	0,63	0,25 x 10 <sup>-2</sup>
P13	0,48	0,41	0,44	0,43 x 10 <sup>-2</sup>

**TABLA R5.** Dimensiones de la glándula hipofisaria y el cociente P/B de los animales incluidos. En rojo los que clásicamente se clasifican como macroadenomas y en verde los que podrían clasificarse como tal según el índice P/B.

En los macroadenomas, se apreciaron los hallazgos que se describen a continuación (resumidos en la tabla R6). En 1/5 existían hallazgos sugerentes de sangrado intratumoral en la región dorsal izquierda de la masa, caracterizados por hiperintensidad en T1 e hipointensidad en T2 en el estudio sin contraste. En 4 casos de los 5 se observó un patrón de captación de contraste heterogéneo, encontrándose entre ellos el que mostraba sangrado, y en solo 1 la captación era homogénea. En 2/5 casos apreciamos hidrocefalia, uno de ellos debido a una evidente presión sobre el tercer ventrículo y acompañado de edema diencefálico. El otro paciente con hidrocefalia exhibía una variante anatómica: carecía de *septum pellucidum*. Dos macroadenomas no mostraban un borde suave y bien delimitado, apareciendo uno de estos lobulado y con sutil remodelación ósea de la silla turca. Tres de 5 tenían pequeñas áreas hipointensas en T1 e hiperintensitas en T2, sin captación en T1 postcontraste, compatibles con áreas de degeneración quística y/o de necrosis intratumoral.

Sólo en un caso se percibió compresión sobre el quiasma óptico, en su lado izquierdo, que no se correspondía con déficit de visión evidente en el paciente, aunque mostraba un reflejo a la amenaza enlentecido. En este mismo caso, y como hallazgo incidental, se observó la existencia de líquido en el oído interno izquierdo sugerente de otitis.

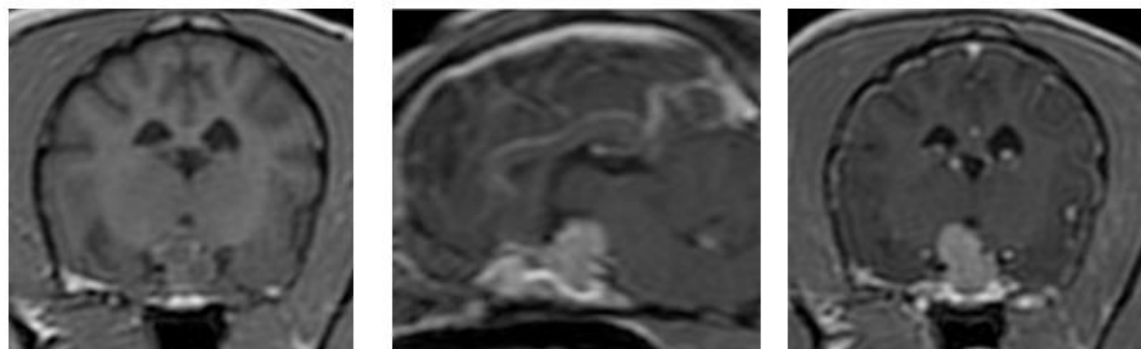
En la tabla R7 se muestran los hallazgos reseñables en la resonancia de los perros con un índice P/B superior a  $0,31 \times 10^{-2}$ .

PERROS	HALLAZGOS RESEÑABLES EN LA RM	Índice P/B
P1	Macroadenoma. Sangrado intratumoral.	$0,9 \times 10^{-2}$
P2	Microadenoma. Ligera extension supraselar.	$0,37 \times 10^{-2}$
P3	Macroadenoma. Captación heterogénea. Crecimiento supraselar lateralizado hacia la izquierda. Pequeños quistes.	$0,82 \times 10^{-2}$
P5	Macroadenoma. Ausencia <i>septum pellucidum</i> . Hidrocefalia. Captación heterogénea.	$0,72 \times 10^{-2}$
P6	Macroadenoma. Captación heterogénea. Zonas quísticas o necrosis	$0,86 \times 10^{-2}$
P9	Microadenoma. Leve extensión supraselar.	$0,41 \times 10^{-2}$
P10	Macroadenoma. Compresión 3 <sup>er</sup> ventrículo. Hidrocefalia. Edema diencefálico. Presión lado izquierdo quiasma óptico. Captación heterogénea. Zonas quísticas tumorales. Otitis interna izquierda.	$1,05 \times 10^{-2}$
P13	Microadenoma.	$0,43 \times 10^{-2}$

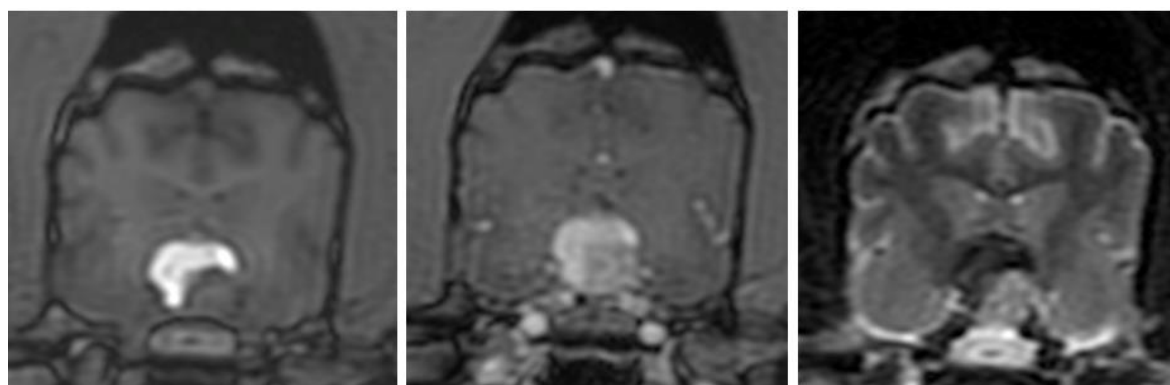
**TABLA R7.** Hallazgos reseñables en el estudio mediante RM en los perros con tumores en los que el índice hipófisis/área cerebral fue superior a  $0,31 \times 10^{-2}$  (Kooistra y col 1997). En color verde se muestran los valores del índice compatibles con macroadenoma pero considerados microadenoma según la clasificación clásica (Behrend y col. 2013) ( $< 10$  mm) y en rojo los considerados macroadenoma ( $> 10$  mm).



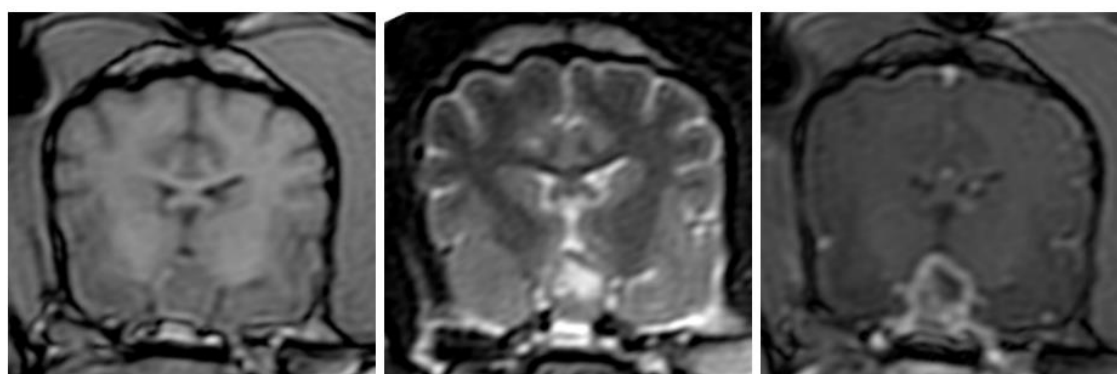
**Figura R1.** Imágenes del caso P5, raza Bóxer. Son imágenes potenciadas en T1 y T2 y T1 con contraste realizadas en el plano coronal. Ausencia de *septum pellucidum*. Macroadenoma con realce heterogéneo, con bordes regulares y pequeñas zonas peritumorales correspondientes a zonas quísticas hipointensas en T1 y T1 postcontraste e hiperintensas en T2.



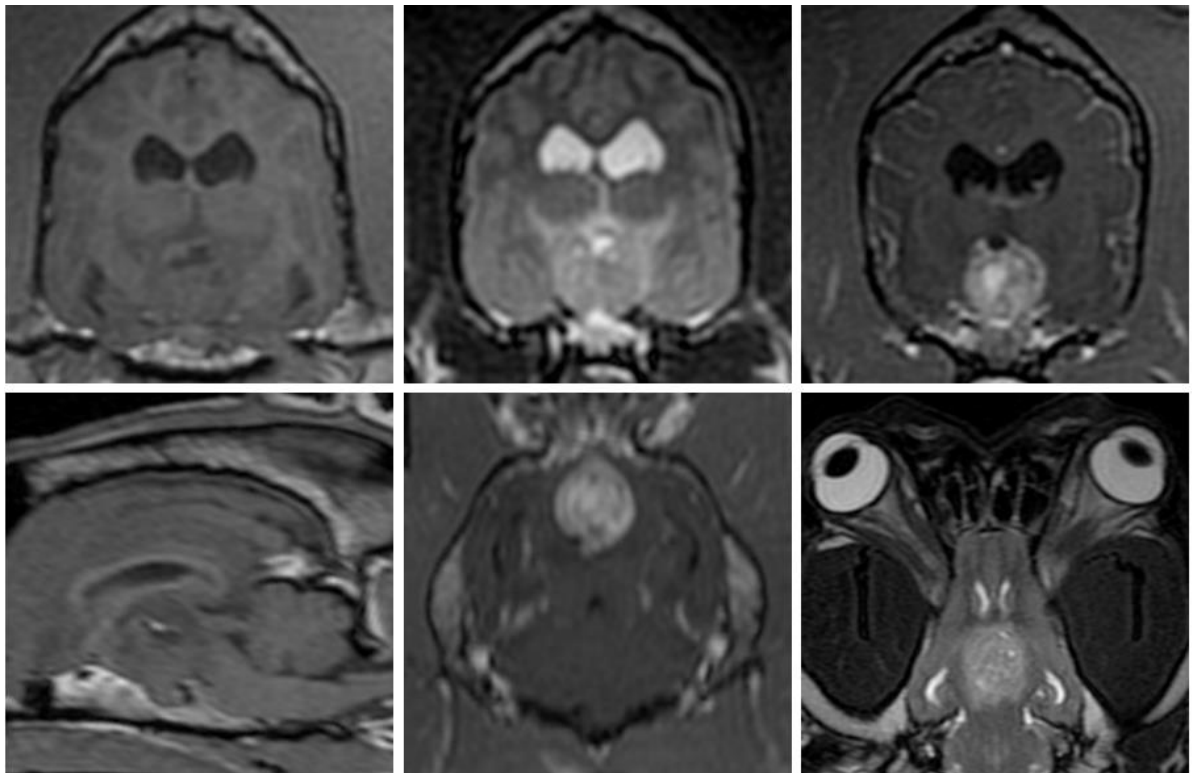
**Figura R2.** Imágenes de P3, raza Lasha apso. Izquierda imagen en plano coronal T1, centro en plano sagital y derecha plano coronal, ambas T1 postcontraste. Macroadenoma, con forma lobulada y realce heterogéneo con contraste.



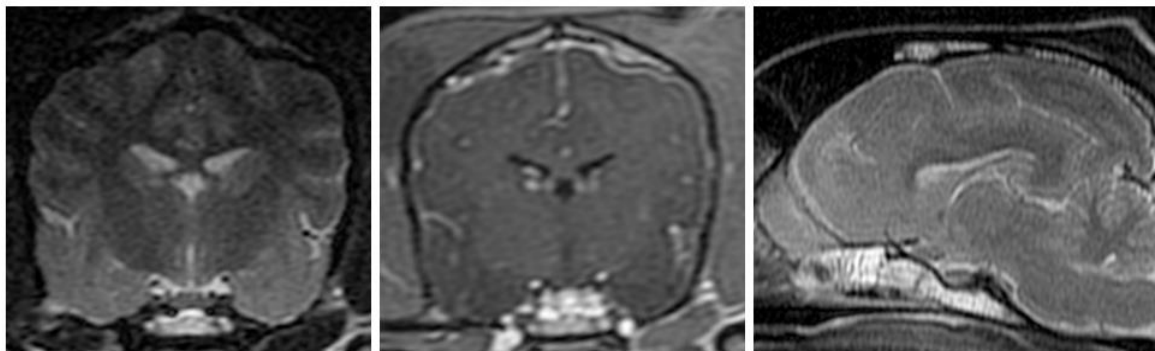
**Figura R3.** Perro P1. Imágenes tomadas en el plano coronal, de izquierda a derecha T1, T1+Contraste, T2. Área de sangrado hiperintensa en T1 e hipointensa en T2. Macroadenoma con realce heterogéneo.



**Figura R4.** Imágenes del caso P6. Cortes coronales, de izquierda a derecha, potenciados en T1, T2 y T1 postcontraste. Macroadenoma con captación heterogénea.



**Figura R5.** Imágenes del caso P10, raza Bóxer. En la línea superior imágenes coronales T1, T2 y T1 postcontraste. En la línea inferior corte sagital en T1 y cortes axiales en T2 y T1 postcontraste. Macroadenoma. Edema peritumoral diencefálico, presión sobre tercer ventrículo que provoca hidrocefalia. Captación heterogénea de contraste.



**Figura R6.** Imágenes del caso P12. Cortes coronales, de izquierda a derecha, potenciados en T2, T1 postcontraste. Y sagital T1. Hipófisis de apariencia normal diagnosticado como microadenoma.

Dos de los animales con macroadenoma, aquellos que mostraban los tumores de mayor tamaño (P5 y P10) y signos de hidrocefalia, tenían sintomatología neurológica central: apatía en ambos, uno de ellos presentaba deambular sin rumbo y quejidos, pressing y desorientación. Como se observa en la tabla R3, uno de estos casos presentaba ausencia de *septum pellucidum* (P5) y el otro (P10) otitis interna, edema diencefálico y peritumoral y presión sobre el lado

izquierdo del quiasma óptico, aunque sin pérdida aparente de la capacidad visual, mostrando una respuesta lenta al test de la amenaza.

El paciente P1, también perteneciente al grupo de perros con macroadenoma, manifestaba dolor con quejidos, evidenciándose en la exploración de RM sangrado intratumoral.

Ninguno de los pacientes con microadenomas tenía sintomatología neurológica.

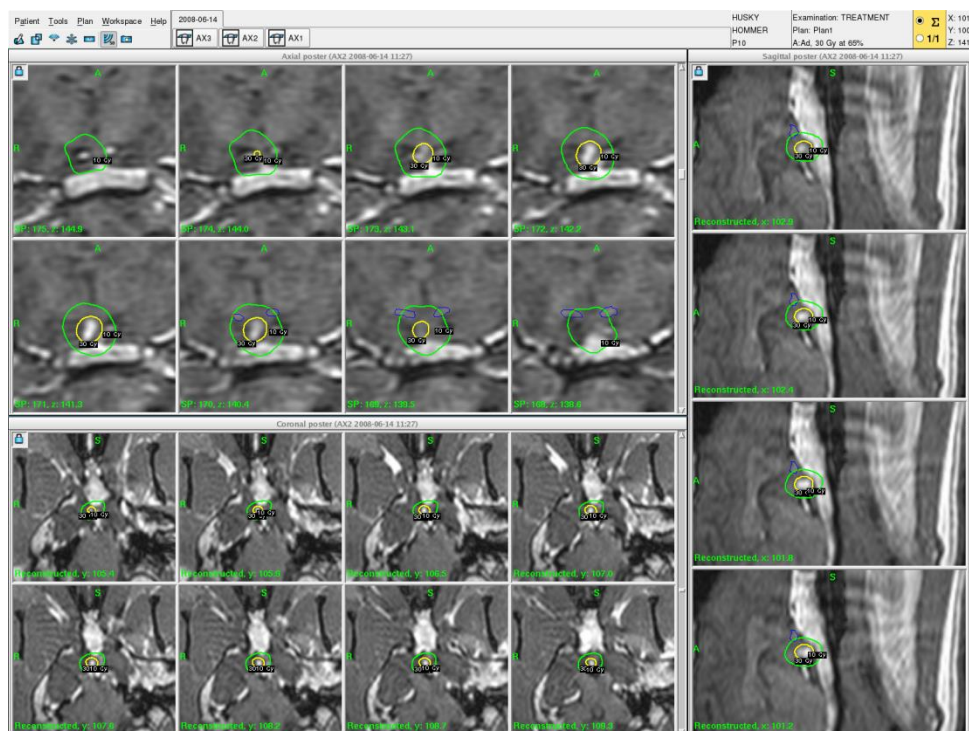
#### 4. Tratamiento con radiocirugía (RCGK)

El programa de planificación LGP para el tratamiento definió el área del tumor a tratar. Delimitó la zona del quiasma y de las cintillas ópticas para evitar su lesión, siempre teniendo en cuenta, tal como ya se ha mencionado, el riesgo/beneficio. En cada uno de los cortes obtenidos con RM se señaló con el programa de planificación el área neoplásica (En la figura R6 se observa en amarillo), permitiendo definir aquellas regiones que debían ser protegidas (en azul en la imagen), observándose en este caso como se delimita el recorrido de las vías ópticas (quiasma óptico y cintillas). En la imagen R6 las zonas verdes se corresponden a aquellas regiones que se encuentran próximas a las vías ópticas mostrando las dosis de radiación, y si el tamaño de la masa lo permitía se marcaba con una dosis radiotolerable.

La dosis de prescripción empleada en los casos varió en función del tamaño del tumor y su cercanía a las vías ópticas, oscilando entre 25,0 a 35,0 Gy, con una media de  $30 \pm 2,89$  Gy. La dosis de radiación que recibieron las vías ópticas en conjunto varió desde 5,5 a 15,0 Gy, con una media de  $10 \pm 2,78$  Gy.

En la tabla R8 se muestran las dosis de radiación que recibieron los animales del estudio.

El tratamiento con radiocirugía se aplicó en un tiempo variable, desde 10 a 20 minutos (media de  $16,8 \pm 3,9$ ), en función de la dosis administrada. No se observaron complicaciones durante el tratamiento con radiocirugía. Durante la monitorización anestésica no se apreciaron alteraciones en la monitorización de los parámetros. La recuperación anestésica se produjo con normalidad en todos los pacientes. En un caso se apreció ligero enfisema subcutáneo en la zona de inserción de los tornillos del marco estereotactico.



**Figura R7.** Planificación del tratamiento en el paciente P9. En amarillo se delimita el área neoplásica. En verde el programa aporta la dosis que llega a las vías ópticas que previamente se han definido y que quedan reflejadas en azul.

PACIENTES	VOLUM mm3	DOSIS TUMOR Gy	VÍAS ÓPTICAS en Gy
P1	400,6	35	6,9
P2	115,5	30	10,8
P3	140,6	25	5,5
P4	63,2	30	15
P5	724,1	25	12
P6	1000	35	11
P7	29,3	30	14
P8	66,7	30	10
P9	106	30	10
P10	3100	30	14
P11	55,4	30	13
P12	66	30	10
P13	146	30	9

**TABLA R8.** Dosis recibidas en el tumor y vías ópticas de los perros del estudio. Volumetría obtenida mediante las medidas efectuadas en las imágenes de RM con el programa LGP.

Durante las 12 horas posteriores al tratamiento 11 perros se recuperaron adecuadamente, aceptando agua a las 8h y dieta blanda a las 12h. No se evidenciaron hallazgos

significativos en el examen físico en estos casos. Los animales fueron dados de alta hospitalaria a las 12h. En dos de los casos (P6 y P13), se observaron vómitos, dolor abdominal y decaimiento a las 8 horas post-tratamiento, por lo que permanecieron hospitalizados con mantenimiento fluidoterápico. A las 24 h post tratamiento, en ambos, hubo empeoramiento y se diagnosticó una pancreatitis aguda en base al cuadro clínico y a la imagen ecográfica compatible, iniciándose tratamiento con antibioterapia, antiH2 y analgesia. El caso P13 tras permanecer hospitalizado falleció a las 72 horas, mientras que el otro fue dado de alta con la medicación correspondiente por vía oral y dieta reducida en grasa.

### 5. Evolución de los animales tras la radiocirugía

A continuación se describe la evolución clínica y analítica más relevante de los perros del estudio en las sucesivas revisiones. Para la exposición de estos resultados los animales han sido clasificados en dos grupos según el tamaño hipofisario observado en la RM.

A la hora de realizar este tipo de ensayos clínicos es importante contar con el compromiso de los propietarios, lo que permite realizar un seguimiento adecuado de la evolución de los perros basados en sus observaciones. En el caso de nuestros pacientes los dueños debían valorar la ingesta de agua antes y tras el tratamiento, el número de micciones y su capacidad de retención, que se traduce en la capacidad para no ensuciar en lugares inadecuados, la intolerancia al ejercicio, la actitud en casa y en la calle, la presencia de jadeo, si había debilidad, la ingesta de comida y el ansia con que a ella se aproximaban, y por último, y no menos importante, los síntomas relacionados con la posible afectación del SNC, como aletargamiento, desconexión del medio, capacidad visual, si muestran pressing o deambulan sin rumbo, trastornos del sueño, de la ingesta de agua o de comida, temblores ó llanto.

La evolución temporal de las variaciones de los niveles de cortisol tras la estimulación con ACTH se exponen en gráficas junto con la evolución hormonal en el apartado correspondiente a la hormona cortisol (7.8).

#### 5.1. Primera semana tras la RCGK

Tal como se mencionó anteriormente los perros acudieron a esta cita sin tomar trilostano. En esta visita dos de los perros mostraban aún las heridas de los tornillos del marco de estereotaxia sin cicatrizar.



### 5.1.1. Perros con microadenoma hipofisario

Los 7 perros pertenecientes a este grupo presentaban antes del tratamiento los siguientes síntomas: alopecia (n=3) con prurito (n=1) y eritema (n=2); sobrepeso (n=6), con una condición corporal de 5/9 (n=1), 6/9 (n=5) y 7/9 (n=1), polifagia (n=5), y polidipsia poliuria (n=7), debilidad severa (n=1), distensión abdominal (n=6) y ausencia de alteraciones en el examen neurológico.

A la semana del tratamiento, y sin recibir trilostano, los dueños refirieron menor debilidad en aquel que la manifestaba previamente, así como una mejor actitud y menor intolerancia al ejercicio en todos los casos. La polifagia presente en 5 casos disminuyó en 4 de ellos. La distensión abdominal se mantenía igual en los 6 perros que la presentaban con anterioridad.

Respecto a la evolución de la polidipsia poliuria en todos los casos los propietarios observaron una disminución de la ingesta de agua. La media de ingesta de agua en 24 horas en este grupo antes del tratamiento era de  $94,91 \pm 46,05$  ml/kg, con un rango de 46,15-129,68 ml/kg/24h, y posteriormente al tratamiento la media disminuyó a  $79,76 \pm 41,77$  ml/kg/24h, con un rango de 38,00-121,53 ml/kg/24h.

Las alteraciones cutáneas se mantuvieron sin cambios. No se advirtieron otros hallazgos en el examen físico ni en el examen neurológico. En 5 perros se apreció una disminución del peso corporal, con una variación media de  $1,74\% \pm 1,12$ , con un rango de 0,69%-3,57%.

Los cambios en la analítica fueron mínimos, apenas hubo variación. La ALT disminuyó 11 puntos en P4 (de 290 a 279 UI/L), en P2 y P7 se redujo levemente el colesterol (P2= de 433 a 299 mg/dl y P7= 290 a 277 mg/dl) y en P11 aumentó la fosfatasa alcalina hasta las 117 UI/L (valor previo 99 UI/L).

Antes del tratamiento el cortisol post-estimulación con ACTH se encontraba en un rango de 7,78 a 27,3 µg/dl, siendo el valor medio de  $19,26 \pm 8,12$  µg/dl. A la semana de tratamiento el cortisol post-ACTH se encontraba en un rango de 7,61-26,2 µg/dl con un valor medio de  $16,17 \pm 7,33$  µg/dl.

En esta visita en 4 de los perros se instauró de nuevo el tratamiento con trilostano, teniendo en cuenta la persistencia de la sintomatología y los resultados de estimulación con ACTH superiores a 19 µg/ml (P2, P4, P7 y P9). Las dosis de trilostano empleadas se muestran en la tabla R9, pero en todos los casos fue inferior a la pauta previamente a la RCGK.



PERROS CON MICROADENOMAS							
EVOLUCIÓN	P2	P4	P7	P8	P9	P11	P12
PESO	↓3,57%	↓0,69%	↓1,9%	↓1,52%	↓1,02%	SC	SC
PD/PU	↓< 100 ml/kg/d	SC	↓< 100 ml/kg/d	↓< 100 ml/kg/d	↓< 100 ml/kg/d	SC	SC(110ml /kg/d)
APETITO	↓	SC	↓	NO	↓N	SC	N
JADEO	NO	NO	NO	NO	↓	NO	NO
DEBILIDAD	↓	SC	↓	NO	↓	NO	NO
INT. EJERC.	NO	SC	↓	NO	NO	NO	NO
DERMATOL.	SC	NO	SC	SC	SC	SC	SC
DIST. ABDOM.	SC	SC	SC	SC	SC	SC	NO
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+	+	+
CORTISOL POST ESTIM	19,9 µg/dl	21 µg/dl	19,8 µg/dl	11 µg/dl	26,2 µg/dl	7,61 µg/dl	7,7 µg/dl
TRILOSTANO	1,8mg/kg/12 h	1mg/kg/1 2h	1mg/kg/1 2 h	NO	1,7mg/kg/12h	NO	NO
ENF. CONCUR.						Periodon- titis	

**TABLA R9:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, N= normalizado, += respuesta positiva.

### 5.1.2. Perros con macroadenoma hipofisario

De los 4 perros que mostraban PD/PU/PF antes del tratamiento 3 disminuyeron la PF levemente y todos ellos redujeron su ingesta de agua. La media del consumo de agua en 24 horas antes del tratamiento en los 4 casos era de  $90,33 \pm 33,31$  ml/kg/24h peso, con un rango entre 61,22 y 136,37 ml/kg/24h, y a la semana de realizar la radiocirugía era de  $68,66 \pm 22,56$  ml/kg/24h, con un rango de 41,67 a 91,74 ml/kg/24h. El perro (P10), que no presentaba PD/PU/PF, había desarrollado previamente al tratamiento con radiocirugía una necrosis adrenal e hipocortisolismo permanente, por lo que se mantenía con tratamiento de glucocorticoides y mineralocorticoides.

En los perros pertenecientes a este grupo (n=5), todos los dueños refirieron una discreta mejoría de los síntomas. En los dos casos en que había síntomas neurológicos centrales (P5 y P10), que mostraban apatía y disminución de la consciencia, mejoraron su atención y reactividad. En los otros 3 casos los propietarios refirieron una mejor actitud y estado de ánimo y con mayor tolerancia al ejercicio.

En un caso (P6) se detectó dolor en la ingle izquierda, posiblemente postural, debido al tiempo que estuvo inmovilizado durante el proceso de resonancia, radiocirugía y hospitalización posterior por pancreatitis. En este perro se apreciaba leve defensa abdominal a la palpación del abdomen craneal (hipocondrio derecho).

El peso corporal de los animales disminuyó en 4 casos, una media de  $2,32\% \pm 1,13$ , en un rango de 0,91% - 3,57%, mientras que P10 mantuvo su peso. Todos ellos, a pesar de los cambios, permanecían con sobrepeso.

El reflejo pupilar no manifestó cambios en los 2 animales que los tenían retardados (P1 y P10). El test de la amenaza enlentecido en P10 mostró una ligera mejoría, aunque sin ser normal. Señalar que en este caso (P10) el perro tenía el adenoma de mayor tamaño asociado con edema diencefálico e hidrocefalia.

Las alteraciones cutáneas se mantenían sin variaciones (n=4).

Respecto a la estimulación con ACTH, el valor medio del cortisol postestimulación con ACTH en este grupo era  $29,27 \pm 9,92 \mu\text{g/dl}$ , con un rango de 20,0 a 43,1  $\mu\text{g/dl}$ .

Todos los pacientes, salvo P10, iniciaron tratamiento de apoyo con trilostano, con una dosis media de  $2,37 \text{ mg/kg/12h} \pm 0,48$  y con un rango de 2-3  $\text{mg/kg/12h}$ .

PERROS CON MACROADENOMAS					
EVOLUCIÓN	P1	P3	P5	P6	P10
PESO	↓ 0,91%	↓ 2,04%	↓ 2,77%	↓ 3,57%	SC
PD/PU	↓	↓	↓	↓	No
APETITO	↓	↓	↓	↓	No
JADEO	No	↓	No	↓	No
DEBILIDAD	SC	↓	SC	NO	SC
INTOL. EJER.	↓	SC	↓	SC	↓
ACTITUD	ALERTA	ALERTA	ALERTA	SC	ALERTA-NV
DERMATOL.	SC	SC	SC	SC	NO
DIST. ABDO.	SC	SC	SC	SC	NO
SIGNOS SNC	↓	↓	↓	NO	TT AMENAZA LENTO
VISTA	SC	SC	SC	SC	SC
REF. PUPILAR	OI LENTO	+	+	+	+
TRILOSTANO	2 mg/kg/12h	3 mg/kg/12h	2,5 mg/kg/12h	2 mg/kg/12h	NO

**TABLA R10:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva.

## 5.2. Primer mes tras la RCGK

### 5.2.1. Perros con microadenoma hipofisario

#### 5.2.1.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano

Los perros P2, P4, P9 y P7 tenían pautado trilostano desde la visita de la primera semana, con una dosis media de  $1,45 \text{ mg/kg/12h} \pm 0,53$ , en un rango de 1 a  $2 \text{ mg/kg/12h}$ .

Ningún perro presentaba PD/PU, en cuanto al apetito en todos se había normalizado. Ninguno mostraba debilidad ni jadeo. P9 había aumentado levemente su intolerancia al ejercicio y P2 y P7 tenían disminución de ese síntoma. Ninguno manifestaba alteraciones neurológicas ni de pares craneales. Las alteraciones cutáneas se mantenían sin cambios en P9, P7 y P4. La distensión abdominal se observaba igual en los cuatro pacientes.

En esta revisión P2 mantenía el mismo peso, P4 y P7 lo habían disminuido un 1,74% y un 2,61% respectivamente. P9 había aumentado un 5,86% su peso.

A todos se les retiró el trilostano dos días antes de la visita para comprobar si los niveles habían variado comparativamente a los que presentaban antes de la RCGK. El cortisol postestimulación con ACTH mostraba una media de  $18,75 \text{ } \mu\text{g/dl} \pm 6,34$ , con un rango de 10,8 a  $26,3 \text{ } \mu\text{g/dl}$ . (Expresado individualmente en la tabla R 10, a continuación). A P4, en función de la ausencia de síntomas y del descenso del cortisol postestimulación, se le retiró el tratamiento con trilostano.

En la visita posterior, 3-5 días después para evaluar la idoneidad de la dosis pautada de trilostano, los resultados de la estimulación con ACTH, manteniendo la dosis de trilostano, fueron  $11,5 \text{ } \mu\text{g/dl}$  (P9),  $7,22 \text{ } \mu\text{g/dl}$  (P2) y  $8,5 \text{ } \mu\text{g/dl}$  (P7), por lo que P7, P9 y P2 continuaron con la misma dosis que en la visita anterior.

#### 5.2.1.2. Sin tratamiento de apoyo con trilostano

Este grupo estaba constituido por 3 perros: P8, P11 y P12.

Todos mantenían una actitud alerta y se encontraban más activos y reactivos. Ninguno mostraba jadeo, intolerancia al ejercicio o debilidad. Salvo P12, que mantenía una leve PD/PU, el resto había normalizado la ingesta de agua. Todos habían normalizado su apetito.

Todos mantenían el mismo peso que en la última visita. La exploración neurológica y de pares craneales seguía siendo normal en todos ellos. El caso P11, aunque presentaba similares

hallazgos cutáneos persistiendo las alopecias, tenía menor prurito. Los perros P8 y P11 aún mostraban el abdomen distendido.

El perro P8 evidenció un ligero descenso del colesterol, desde 489 mg/dl a 455 mg/dl; la FA bajó de 680 a 430 UI/L y la ALT de 491 a 124 UI/L.

En P11 se observó un descenso de la colesterolemia, de 418 a 365 mg/dl, y de la FA de 186 a 134 UI/L.

P12 redujo levemente los niveles plasmáticos de FA desde 177 a 116 UI/L.

Los valores del cortisol plasmático post-estimulación con ACTH en este grupo eran: P8= 14,2 µg/dl, P11= 7,61 µg/dl y P12= 7,7 µg/dl.

Ante la mejoría de los síntomas y de los resultados analíticos a ninguno se le pautó trilostano.

P8 de raza caniche, con una edad 12 años y 11 meses, fue eutanasiada 1 semana después de esta revisión por una pancreatitis aguda. La supervivencia tras el tratamiento fue de 40 días. La causa de la muerte no es atribuible a la radiocirugía. No nos permitieron realizar la necropsia.

PERROS CON MICROADENOMAS							
	CON TRILOSTANO DE APOYO				SIN TRILOSTANO		
EVOLUCIÓN	P2	P4	P7	P9	P8	P11	P12
PESO	SC	↓1,74%	↓2,61%	↑5,86%	SC	SC	SC
PD/PU	N< 100 ml/kg/d	↓< 100 /kg/d	N< 100 ml/kg/d	SC< 100 ml/kg/d	SC< 100 ml/kg/d	SC	↓(105 ml/kg/d )
APETITO	↑	↓	↓	N	↓N	↓N	No
JADEO	SC	SC	SC	N	SC	SC	SC
DEBILIDAD	N	N	N	N	No	No	No
INT. EJERC.	SC	↓	↓	↑	SC	SC	SC
DERMATOL.	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
DIST. ABDOM.	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+	+	+
ESTIM. ACTH	19,3 µg/dl	10,8 µg/dl	18,6 µg/dl	26,3 µg/dl	14,3 µg/dl	7,61 µg/dl	7,7 µg/dl
DOSIS TRILOSTANO	1,8mg/kg /12h	Se retira	1mg/kg/1 2 h	1,7mg/kg /12h	NO	NO	NO

TABLA R11: Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva.

### 5.2.2. Perros con macroadenoma hipofisario

Todos los propietarios de los perros incluidos en este grupo manifestaban encontrar a sus mascotas más vivaces, menos débiles, más alerta y con menos debilidad.

En todos los casos existía disminución del apetito, excepto en P10 que padecía hipoadrenocorticismismo y que mantenía un apetito normal desde el principio. En cuanto a la PD/PU estaba corregida, siendo su media de ingesta y su desviación de  $67,35 \pm 19,01$  ml/kg y con un rango de 47,62 a 86,96 ml/kg.

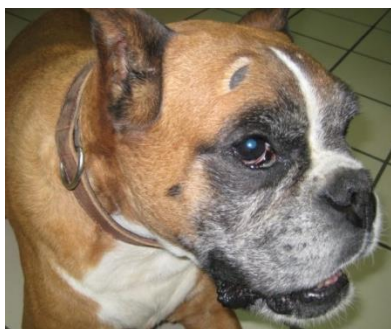
El peso se había reducido solo en 1/5 un 5,5%, el resto presentaban un aumento medio de  $6,42\% \pm 2,96$ , con un rango de 2,62%-8,9%.

La exploración neurológica de P10 había mejorado, evidenciándose una respuesta más rápida al test de la amenaza, aunque sin llegar a la normalidad. El caso P1 mostraba disminución del defecto del reflejo pupilar en el ojo izquierdo (tanto directo como indirecto), lo que se identificó como una sutil mejoría. No presentaban otra sintomatología relacionada con el SNC.

En 3/5 se incrementaron los niveles de fosfatasa alcalina una media de  $480,33 \pm 429,20$  UI/L ( $4,0-837,0$  UI/L) y del colesterol una media de  $70,0 \pm 16,09$  mg/ml ( $57,0-88,0$  mg/ml) respecto a los evidenciados previamente antes del tratamiento, aunque en 1/5 estos niveles bajaron, así la FA disminuyó 14 UI/L y el colesterol se redujo 5 mg/ml, sin llegar aún a ser fisiológicos.

El cortisol postestimulación con ACTH (habiendo retirado el trilostano dos días antes de la revisión) mostraba una media de  $28,38 \pm 10,25$  µg/dl, con un rango de 19,9- 42,9 µg/dl.

Todos, excepto P10 por su hipoadrenocorticismismo, continuaron con la misma dosis de trilostano, pues la estimulación realizada una semana después de esta visita para evaluar la respuesta a la ACTH con el tratamiento, se encontraba en valores adecuados para el control de la enfermedad (cortisol post-estimulación  $5,6 \pm 1,0$ , rango 3,2-8,9).



**Figura R7.** P5 con la cicatriz que le dejó el tornillo del marco de estereotaxia.

PERROS CON MACROADENOMAS					
EVOLUCIÓN	P1	P3	P5	P6	P10
PESO	↓ 0,91%	↓ 2,04%	↓ 2,77%	↓ 3,57%	SC
PD/PU	N	N	N	N	NO
APETITO	↓	↓	↓	↓	SC
JADEO	↓	↓	↓	↓	SC
DEBILIDAD	SC	↓	SC	NO	SC
INTOL. EJER.	↓	SC	↓	SC	↓
ACTITUD	ALERTA	ALERTA	ALERTA	SC	ALERTA-NV
DERMATOL.	SC	SC	SC	SC	NO
DIST. ABDO.	SC	SC	SC	SC	NO
SIGNOS SNC	↓	NO	↓	NO	TT AMENAZA LENTO
VISTA	SC	SC	SC	SC	SC
REF. PUPILAR	OI LENTO	+	+	+	+
TRILOSTANO	2 mg/kg/12h	3 mg/kg/12h	2,5 mg/kg/12h	2 mg/kg/12h	NO

**TABLA R12:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, TT= test, NV= nervioso.

### 5.3. Primer trimestre tras la RCGK

#### 5.3.1. Perros con microadenoma hipofisario

Esta fase del estudio se realizó únicamente en 6 animales por la muerte de P8.

##### 5.3.1.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano

Este grupo estaba constituido por 3 perros.

Todos habían mostrado una gran mejoría de la sintomatología, encontrándose alerta y activos. La intolerancia al ejercicio y la debilidad habían desaparecido. Ninguno mostraba PD/PU y el apetito estaba normalizado.

En la exploración se percibió disminución de la distensión abdominal en los tres casos. El caso P2 aumentó de peso un 1,23%, P9 aumentó un 7,5% y P7 disminuyó un 2,68%. A todos se les recomendó una dieta apropiada para perder peso.

La exploración neurológica no mostraba alteraciones en ninguno de los casos. P9 mantenía las alopecias del cuello pero sin eritema, y P7 presentaba un recrecimiento del pelo en las alopecias de los flancos.

Todas estas mejoras fueron atribuibles a la combinación con el tratamiento farmacológico con trilostano.

El caso P2 redujo sus niveles de fosfatasa alcalina y de colesterol, aunque los de FA aún se mostraban altos (980 UI/L). P9 tenía una FA de 1150 UI/L y una ALT de 138 UI/L. P7 presentaba todos los parámetros sanguíneos y bioquímicos dentro del rango normal.

Los valores de cortisol tras la estimulación con ACTH (con el trilostano retirado 2 días antes) fueron de 17,03 µg/dl en (P2), 29 µg/dl (P9) y 15,8 µg/dl en P7. El control tras la medicación días después mostraba valores con una media de  $7,9 \pm 0,52$  µg/dl (6,86-7,9 µg/dl), por tanto no fue necesario cambiar las dosis pautadas.

PERROS CON MICROADENOMAS						
	CON TRILOSTANO			SIN TRILOSTANO		
EVOLUCIÓN	P2	P7	P9	P4	P11	P12
PESO	↑1,23%	↓2,68%	↑7,5%	↓2,83%	SC	SC
PD/PU	N	N	N	SC	SC	N
APETITO	N	N	N	N	N	N
JADEO	NO	NO	NO	SC	SC	SC
DEBILIDAD	NO	NO	NO	SC	SC	SC
INT. EJERC.	NO	↓	↑	SC	SC	SC
DERMATOL.	SC	SC	SC	SC	SC	SC
DIST. ABDOM.	↓	↓	↓	SC	SC	SC
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+	+
TRILOSTANO	16,02 µg/dl	15,8 µg/dl	29 µg/dl	11,1 µg/dl	6,66 µg/dl	5,43 µg/dl
ENF. CONCUR.	1,8mg/kg /12h	1mg/kg/12 h	1,7mg/kg /12h	NO	NO	NO

**TABLA R13:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, N= normalizado, += respuesta positiva.

### 5.3.1.2. Sin tratamiento con trilostano

Este grupo estaba constituido por 3 perros, P4, P11 Y P12.

En todos los casos los dueños señalaban que los perros eran más activos, con más ganas de salir y no presentaban debilidad. Ninguno tenía intolerancia al ejercicio, jadeo ni PD/PU, siendo el apetito normal. Persistía la distensión abdominal en P4.

El caso P11, la hembra con alopecias, evidenciaba disminución de la extensión de las mismas y desaparición del prurito. Los casos P11 y P12 mantenían su peso sin variaciones, mientras que P4 lo había reducido un 2,83%.

En la analítica sanguínea P11 y P12 no presentaban ninguna alteración. P4 mostraba un ascenso de los niveles de FA desde 108 a 208 UI/L y de ALT desde 155 a 305 UI/L. Se le pautó una dieta hepática.

Los valores del cortisol tras la estimulación con ACTH exhibían los siguientes valores, P4= 11,1 µg/dl, P11= 6,6 µg/dl y P12=5,43 µg/dl.

### **5.3.2. Perros con macroadenoma hipofisario**

#### **5.3.2.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano**

En este grupo 4 perros tenían pautado tratamiento de apoyo con trilostano, con una dosis media de 2,5 mg/kg/12h, para controlar la sintomatología del HAC.

Tres de 4 no tenían intolerancia al ejercicio y P5 la mantenía pero en menor grado. En todos ellos la ingesta de agua se había reducido, aunque no tenemos las medidas numéricas en la totalidad de los casos. Dos de 4 no tenían polifagia y en los restantes la polifagia era menos severa. Ninguno jadeaba, todos estaban más alerta y activos, ninguno mostraba debilidad. El abdomen distendido que se observaba en un caso había desaparecido.

Dos de los 3 perros de este grupo aumentaron de peso desde la revisión anterior, una media de  $4,52\% \pm 3,72$  y con un rango de 0,43% - 7,7%. El caso P5 disminuyó un 4,15% de su peso, y presentaba un soplo grado II/VI que previamente no se auscultaba, pero sin mostrar aún sintomatología cardíaca. Se detectó hipertensión arterial y en la analítica de orina una proteinuria leve (50 g/L). Se recomendó visita cardiológica y tratamiento con benaceprilo debido a la hipertensión y la proteinuria. Este mismo caso mostraba calcinosis cutis sin variaciones, pero la alopecia que presentaba previamente se había reducido.

El caso P5 mantenía la calcinosis cutis pero con menor alopecia. P1 continuaba mostrando una respuesta lenta en el reflejo pupilar del ojo izquierdo pero no tenía llantos.

P1 presentó cambios analíticos con una GPT de 63 UI/L, una fosfatasa alcalina de 1400 y 13.600 leucocitos/µl. En ecografía abdominal se observó un mucocoele. No se observaron cambios con respecto a la analítica anterior en el resto de los perros.



Los niveles de cortisol tras la estimulación con ACTH, con el trilostano retirado, en todos superaban los 20 µg/dl, con una media de 22,95 ± 2,16 µg/dl y un rango de 21,0 a 26,0 µg/dl.

Los niveles de cortisol tras la estimulación sin retirar el trilostano y el estado clínico de los animales hicieron que la dosis media fuera de 1,9 ± 0,5 mg/kg/12 h, con un rango de 1,0 a 4,0 mg/kg/12h.

Al mes siguiente de esta revisión P6 volvió a la consulta con queratoconjuntivitis seca, signos de afectación del SNC leves, con aletargamiento y debilidad. Posteriormente, el quinto mes postratamiento mostraba ya incapacidad para sortear obstáculos, temblores y se mostraba poco reactivo, pero con la visión aparentemente no afectada. Se diagnosticó una afectación del III par craneal (oculomotor) postciliar, y afectación diencefálica. A la semana presentaba azotemia marcada, temblores, estaba comatoso y cianótico, por lo que se procedió a la eutanasia humanitaria del animal. La edad en el momento de la eutanasia era de 12 años y 3 meses. Su supervivencia expresada en meses fue de 5 y en días 181.

PERROS MACROADENOMAS					SIN TRILOSTANO
EVOLUCIÓN	P1	P3	P5	P6	P10
PESO	↑5,5%	↓5,2%	↑2,62%	↑8,9%	↑8,64%
PD/PU	45ml/kg/d	48ml/kg/d	100ml/kg/d	200 ml/kg/d	NO
APETITO	↓	N	N	N	N
JADEO	NO	↓	NO	NO	NO
DEBILIDAD	↓	NO	NO	NO	NO
INTOL. EJER.	↓		SI	NO	NO
ACTITUD	Alerta	Alerta	Decaída	Letargia	SC
DERMATOL.	No alopecia	SC	SC	NO	NO
DIST. ABDO.	↓	SC	SC	↓	NO
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	QUEJIDOS	NO
VISTA	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	OI LENTO	+	+
TRILOSTANO	1 mg/kg/12h	3 mg/kg/12h	6 mg/kg/12h	1 mg/kg/12h	NO

TABLA R14: Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N=normal.

### 5.3.2.2. Sin tratamiento con trilostano

En este grupo se encontraba P10, el paciente con hipoadrenocorticismo, que mostró un aumento de peso del 1,64%.

El perro se encontraba activo, alerta, nervioso, se movía mejor, su sintomatología neurológica había mejorado mucho respecto a cómo se encontraba previamente al tratamiento, ya no mostraba aletargamiento, llanto, pressing, ni deambulaba sin rumbo. La respuesta al test de la amenaza, que previamente estaba enlentecida, ya era normal. El resto de la exploración neurológica, tanto de pares craneales como de respuestas posturales, eran normales.

Sus datos analíticos estaban todos dentro del rango fisiológico.

#### 5.4. Segundo trimestre tras la RCGK

##### 5.4.1. Perros con microadenoma hipofisario

###### 5.4.1.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano

En el 5º mes tras la radiocirugía P4 acudió a la consulta con los siguientes síntomas: PD/PU, debilidad e intolerancia al ejercicio. En este mismo caso el cortisol postestimulación fue de 34,6 µg/dl, por lo que se inició tratamiento de apoyo con trilostano con dosis de 1 mg/kg/12h. Este aumento de valores se produjo en la fase final del proestro. A partir de este momento P4 se unió a los perros con tratamiento con trilostano, de forma que a partir de esta visita había 4 pacientes en este grupo (P2, P4, P7 y P9).

El caso P9 comenzaba a aumentar la ingesta de agua y todos los demás la mantenían < 100 ml/kg/24h. El apetito era normal en todos ellos. P2, P7 y P4 tenían menor distensión abdominal, aunque en P9 aumentó ligeramente. Todos mantenían una buena actitud, sin intolerancia al ejercicio ni debilidad.

Todos aumentaron de peso una media de  $2,37\% \pm 1,14$ , en un rango de (1,21-3,94%). P7 tenía más pelo en las zonas alopécicas que en las anteriores revisiones, mientras que P9 volvía a perder pelo. La exploración neurológica fue normal en todos los perros de este grupo.

Los datos analíticos de P7 estaban dentro del rango fisiológico. P2 evidenció disminución de los niveles de FA, de 980 a 650 UI/L. P4 aumentó los niveles de FA de 168 a 260 UI/L y de ALT de 208 a 397 UI/L. P9 redujo los niveles de ALT de 138 a 110 UI/L y aumentó la FA de 1150 a 1650 UI/L.

Los test de estimulación con ACTH (con el trilostano retirado) evidenciaron una media de  $21,71 \pm 12,63$  µg/dl, en un rango de 10,04 - 36 µg/dl. Los valores de la estimulación con trilostano estaban dentro del rango normal siendo de  $6,5 \pm 0,99$  µg/dl y con un rango de 5,4-7,8 µg/dl.

La dosis media de trilostano era  $1,45 \pm 0,53$  mg/kg/12h, en un rango de 1 a 2 mg/kg/12h. No se varió la dosis de trilostano en esta visita excepto en P2, que al mostrar desaparición de la sintomatología y comprobar que el cortisol post-ACTH (sin trilostano) era de 10 µg/dl, se le retiró el trilostano.

PERROS CON MICROADENOMAS						
	CON TRILOSTANO DE APOYO				SIN TRILOSTANO	
EVOLUCIÓN	P2	P4	P7	P9	P11	P12
PESO	↑1,21%	↑2,25%	↑2,1%	↑3,94%	↑2,5%	SC
PD/PU	N	N	N	↑< 100 ml/kg/d	SC	SC
APETITO	N	N	N	N	SC	SC
JADEO	SC	SC	SC	SC	SC	SC
DEBILIDAD	SC	SC	SC	SC	SC	SC
INT. EJERC.	SC	SC	SC	SC	SC	SC
DERMATOL.	SC	SC	+ pelo	↓	Alopecia Hiperpigmentación comedones	SC
DIST. ABDOM.	↓	↓	SC	N	SC	SC
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+	+
ESTIM. ACTH	10,04 µg/dl	28,6 µg/dl	12,2 µg/dl	36 µg/dl	6,45 µg/dl	5,21 µg/dl
DOSIS TRILOSTANO	Se retira	1mg/kg/12 h	1mg/kg/12 h	1,7mg/kg/12h	<b>NO</b>	<b>NO</b>

**TABLA R15:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N= normalizado.

#### 5.4.1.2. Sin tratamiento con trilostano

Seguían en este grupo P11 y P12.

Ninguno presentaba intolerancia al ejercicio, ni jadeo, ni debilidad. Se mantenían alertas, activos y con ganas de salir de paseo. Ninguno tenía polifagia ni PD/PU.

P11 incrementó su peso un 2,5%. P11 mostraba la piel fina nuevamente, con alopecia en las mismas áreas que en su valoración inicial y con aparición de pigmentación y comedones en abdomen. La exploración neurológica era normal.

Los datos referentes a las analíticas se encontraban en todos los casos dentro de los fisiológicos y los niveles de cortisol post estimulación con ACTH eran de 6,45 µg/dl en P11 y de 5,21 µg/dl.

#### **5.4.2. Perros con macroadenoma hipofisario**

##### **5.4.2.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano**

Tras el deceso en el 5 mes de P6 solo 3 perros continuaban el tratamiento con trilostano en esta revisión, con una dosis media de 1,2 mg/kg/12h (de 1 a 4 mg/kg/12h). Todos ellos acudieron entre el primer y segundo trimestre para valorar su evolución y comprobar si la dosis de trilostano era adecuada, no efectuándose ningún cambio en la medicación al no considerarse necesario.

P5 presentaba aún calcinosis cutis, aunque esta había disminuido y ya no tenía alopecias en el dorso. Ninguno presentaba PD/PU ni polifagia.

Dos perros disminuyeron de peso, P1 un 5,2% y P3 un 1,02%. P5 aumentó su peso un 5,33%. P1 tenía un pulso muy lento (42 lpm) por lo que se sospechó hipotiroidismo, siendo su T4 menor de 1 ng/ml y la TSH 0,07 ng/ml, y por tanto se pautó tratamiento con tiroxina (dexnon®). Ya no mostraba alopecia, pero el pelo aún tenía una apariencia mate. Ninguno de los perros restantes presentaba alopecia. P5 tenía un reflejo pupilar lento en ambos ojos pero consensual.

En el caso P3 el pelo se oscureció, pasó de ser una hembra de lasha apso de color claro y con algunas manchas tenues color canela claro a tener una capa de color gris con manchas oscuras, especialmente en la cara.

No se apreciaron modificaciones en la analítica sanguínea en esta revisión, con la excepción del colesterol en el paciente P1 (colesterol de 428 mg/dl).

Los datos referentes a la estimulación con ACTH sin trilostano mostraron una media de  $24,0 \pm 3,99$  ng/ml, en un intervalo de 19,5 a 25,4 ng/ml. Con trilostano la media del cortisol post-estimulación era de  $6,15 \pm 0,72$  µg/dl (5,15 – 6,8 µg/dl). En dos casos continuamos con la misma dosis de trilostano, mientras que en el otro se redujo la dosis a 2,2 mg/kg/12h.

P5 estaba más débil a partir del 4º mes postradioterapia y manifestaba, como único hallazgo, un reflejo pupilar directo e indirecto enlentecido en ambos ojos y consensual. Además se mostraba decaída y, aunque mantenía cierto grado de actividad, tenía leve intolerancia al ejercicio. Por otro lado le había salido pelo y la calcinosis había mejorado. Su dosis de trilostano era la más alta pautada en este grupo (4 mg/kg/12h). Sin embargo, aunque en estas visitas sus

niveles de urea plasmática eran normales, dos semanas después de esta revisión fue eutanasiada debido a azotemia, con una edad de 8 años y 8 meses. El motivo de su sacrificio fue azotemia debida a insuficiencia renal. Su supervivencia fue de 6 meses, o en días 189. Se realizó necropsia.

#### 5.4.2.2. Sin tratamiento con trilostano

El paciente con hipoadrenocorticismo se mantenía activo, alerta, con buena vitalidad y sin signos neurológicos. Había aumentado de peso un 0,32%, y su índice corporal era de 7/9. En la analítica no se observaron cambios significativos, encontrándose todos los parámetros dentro del rango fisiológico.

PERROS CON MACROADENOMAS				SIN TRILOST.
EVOLUCIÓN	P1	P3	P5	P10
PESO	↑0,43%	↑7,7%	↓4,15%	↑0,32%
PD/PU	45,6 ml/kg/d	50,5 ml/kg/d	48,6 ml/kg7d	NO
APETITO	N	N	N	N
JADEO	NO	NO	NO	NO
DEBILIDAD	NO	NO	↑	NO
INTOL. EJER.	NO	NO	↑	NO
ACTITUD	Alerta	Alerta	Alerta	Alerta
DERMATOL.	NO	Cambio color	↓	NO
DIST. ABDO.	NO	↓	↓	NO
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	LENTO AMBOS OJOS	+
ENF CONCUR	MUCOCELE BILIAR	NO	IM + IR	NO
TRILOSTANO	1,5mg/kg/12h	2,5mg/kg/12h	3,5mg/kg/12h	NO

**TABLA R16:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N= normalizado.

## 5.5. Tercer trimestre tras la RCGK

### 5.4.1. Perros con microadenoma hipofisario

#### 5.4.1.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano

Al 8º mes tras el procedimiento P7 acudió a la consulta de control. No manifestaba sintomatología compatible con HAC y los niveles de cortisol post-estimulación con ACTH se situaron en 10,3 µg/dl, por lo que al reunir los criterios adecuados se le retiró el trilostano.

Por tanto este grupo estaba en este momento formado por P4 y P9. Ninguno mostraba debilidad ni abdomen distendido, no apreciándose PD/PU y siendo el apetito normal. P4 Había sufrido una pseudogestación semanas antes siendo tratada en su clínica habitual. P9 manifestaba intolerancia al ejercicio por dolor en la extremidad posterior izquierda.

Respecto al examen físico, P4 redujo su peso un 0,71%. No se observaron otros hallazgos destacables en la exploración física.

La analítica mostraba en P4 hemoconcentración, con un 71,8% de hematocrito y 26,6 g/dl de hemoglobina. El colesterol había aumentado de 255 a 335 mg/dl, la FA de 206 a 283 UI/L y la ALT de 397 a 559 UI/L.

La analítica de P9 presentaba un descenso de los niveles de FA desde 1625 a 540 UI/L, de ALT de 144 a 79 UI/L y de colesterol de 586 a 389 mg/dl.

Los valores de cortisol tras la estimulación con ACTH sin trilostano fueron de 23,1 µg/dl (P4) y 37 µg/dl (P9), respectivamente. Los valores de cortisol postestimulación de control de la medicación se encontraron en 6,4 µg/dl en P9 y en 5,8 en P4 µg/dl.

#### 5.5.1.2. Sin tratamiento con trilostano

Había en este momento 4 perros en este grupo. Todos permanecían activos, alerta, sin PD/PU y sin polifagia. Ninguno tenía el abdomen distendido.

El caso P7 disminuyó su peso un 2,1%. P2, P11 y P12 lo mantenían igual que en el segundo trimestre. P11 tenía un soplo cardíaco grado II /VI que fue detectado en su clínica habitual un mes antes. Presentaba tos y tenía medicación pautada para la insuficiencia mitral diagnosticada (benaceprilo y espironolactona). Su alopecia se había reducido, pero conservaba la pigmentación y los comedones abdominales sin cambios. Manifestaba dolor articular debido a artrosis en la extremidad posterior derecha.

Solo P2 tenía cambios en la analítica: descenso de la FA desde 650 a 245 UI/L. El resto de perros presentaban una analítica dentro de los valores fisiológicos.

El cortisol post-estimulación mostraba una media de  $7,76 \pm 2,39$  µg/dl y con un rango entre 5,2 y 9,99 µg/dl. (expresado individualmente en la tabla R16)

PERROS CON MICROADENOMAS						
	TRILOSTANO		SIN TRILOSTANO			
EVOLUCIÓN	P4	P9	P2	P7	P11	P12
PESO	↓0,71%	SC	SC	↓2,1%	SC	SC
PD/PU	N	N	N	N	N	N
APETITO	N	N	N	N	N	N
JADEO	SC	SC	N	N	N	N
DEBILIDAD	SC	SC	N	N	N	N
INT. EJERC.	SC	↑	N	N	N	N
DERMATOL.	SC	SC	N	N	N	N
DIST. ABDOM.	N	SC	N	N	N	N
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+	+
ESTIMUL. ACTH	23,1 µg/dl	37 µg/dl	9,6 µg/dl	9,99 µg/dl	6,25 µg/dl	5,2 µg/dl
TRILOSTANO	1mg/kg/12 h	1,7mg/kg /12h			NO	NO
ENF. CONCUR.		Dolor EPI Tos			IC + Artrosis	

**TABLA R17:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N=normal.

### 5.5.2. Perros con macroadenoma hipofisario

#### 5.5.2.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano

En esta revisión continuaban vivos P3 y P1. Ambos estaban alerta y mostraron un incremento de peso, P1 un 3,65% y P3 un 8,25%.

P3 presentaba leve debilidad, letargia poco marcada y leve intolerancia al ejercicio. Sin embargo el apetito era normal y la distensión abdominal casi había desaparecido. Volvía a manifestar PD/PU con una ingesta de agua de 110 ml/kg/24h. En este momento la dosis pautada de trilostano era de 2,3 mg/kg/12h. Debido a que presentaba unas proteínas totales de 8,4 g/L se efectuó una analítica de orina para evaluar el cociente proteína/creatinina y para realizar un

cultivo de orina, que demostró infección de vías urinarias por lo que se le administró tratamiento antibiótico. Su estimulación con ACTH sin trilostano arrojó unos valores de 18,75 µg/dl.

P1 tenía hipotiroidismo tratado desde la visita anterior. No presentaba intolerancia al ejercicio, debilidad o apatía. Su apetito era normal y su ingesta de agua era de 66,07 ml/kg/24h. El pelo había crecido y ya no era mate. Mantenía sobrepeso con una condición corporal de 7/9, pero la distensión abdominal había remitido. En esta ocasión se detectaron cataratas incipientes y el reflejo pupilar del ojo izquierdo, tanto directo como indirecto, era negativo. Sospechamos que el tumor estaba creciendo, ya que además de empeoramiento del reflejo pupilar, los datos de la estimulación con ACTH habían aumentado de 21 (en la revisión anterior) a 25,4 µg/dl. Este paciente continuó con trilostano con una dosis de 1,3 mg/kg/12h.

En ambos perros observamos un aumento de la fosfatasa alcalina sérica, P1 tenía 1600 UI/L (en la revisión anterior tenía 1400 UI/L) y P3 257 UI/L (en la revisión anterior 155 UI/L).

En ninguno de los dos casos se varió la dosis de trilostano debido a que su estimulación con ACTH con el tratamiento administrado estaba en unos valores de 8,67 µg/dl para P1 y 7,5 µg/dl para P3.

#### **5.5.2.2. Sin tratamiento con trilostano**

P10 incrementó su peso en los tres últimos meses. Su actitud empezaba a mostrar un empeoramiento, caracterizado por leve grado de letargia con discreta debilidad, aunque aún se encontraba reactivo. Su apetito había disminuido y le costaba levantarse, mostrando atrofia muscular en el tercio posterior. En la exploración neurológica volvía a presentar un retraso en la respuesta al test de la amenaza. Sin embargo el reflejo pupilar, el palpebral y posturales eran normales.

La analítica no evidenciaba cambios.

Debido a la aparición de síntomas se sospechó una recidiva tumoral. Se le aumentó la dosis de dexametasona que tomaba por vía oral ya que sus valores basales de cortisol se encontraban en 0,6 µg/dl.



PERROS CON MACROADENOMAS			SIN TRILOSTANO
EVOLUCIÓN	P1	P3	P10
PESO	↑3,65%	↑8,25%	↑0,64%
PD/PU	↑66,08ml/kg/d	190,5ml/kg/d	NO
APETITO	N	N	↓
JADEO	NO	NO	NO
DEBILIDAD	NO	SI	↑
INTOL. EJER.	NO	SI	↑
ACTITUD	Alerta	Alerta	Letargia
DERMATOL.	NO	+ OSCURA	NO
DIST. ABDO.	NO	↓	NO
SIGNOS SNC	TT AMEN LENTO	NO	TT AMEN ↓
VISTA	CATARATAS	N	N
REF. PUPILAR	-ambos ojos	+	+
TRILOSTANO	SC	SC	NO
ENF CONCUR	Hipotiroidismo	NO	NO

TABLA R18: Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, TT = test.

## 5.6. Un año tras la RCGK

### 5.6.2. Perros con microadenoma hipofisario

#### 5.6.2.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano

Este grupo estaba constituido por P4 y P9. No se habían variado las dosis de trilostano (1 y 2 mg/kg/12h respectivamente).

En ninguno se evidenció distensión abdominal, debilidad, ni PD/PU y el apetito era normal, P9 continuaba con intolerancia al ejercicio y dolor en la extremidad.

En P9 el pelo había crecido disminuyendo notablemente las alopecias del cuello. P4 había sido sometido a dieta prescrita en la revisión anterior y perdió un 1,43% de peso. P9 lo incrementó un 5,54%. Se recomendó valorar si la intolerancia al ejercicio observada en P9 podría deberse a una insuficiencia valvular diagnosticada unos meses antes, dado que los resultados de la analítica no sugerían que fuera debido a HAC, incluso las alopecias estaban desapareciendo.

Los resultados de la analítica de P9 mostraban un descenso de los niveles de FA (258 UI/L), ALT (70UI/L) y colesterol (380 mg/dl), encontrándose el resto de los parámetros dentro del rango de la normalidad.

La analítica de P4 mostraba una disminución de los niveles de esos mismos parámetros: FA (258 UI/L), ALT (184 UI/L), aunque aun se mantenían elevados, y un ascenso de los niveles de colesterol (480 mg/dl). Debido a estos resultados se pautó denosil®

Los datos de cortisol plasmático tras estimular con ACTH sintética fueron de 18 µg/dl en P4 y de 39 µg/dl en P9.

A los 13 meses, un mes más tarde de esta revisión, P9, mestizo de Husky, fue eutanasiado, por problemas socioeconómicos de los propietarios, no pudiendo disponer del cadáver. La edad de este animal era de 12,5 años. Su supervivencia fue de 379 días. A pesar de que su adenoma presentaba extensión supraselar nunca manifestó signos clínicos relacionados con el SNC.

PERROS CON MICROADENOMAS						
	TRILOSTANO		SIN TRILOSTANO			
EVOLUCIÓN	P4	P9	P2	P7	P11	P12
PESO	↓1,43%	↑5,54%	↑2,44%	↑2,1%	↓2,4%	SC
PD/PU	SC	SC	SC	SC	SC	SC
APETITO	SC	SC	SC	SC	SC	SC
JADEO	SC	SC	SC	SC	SC	SC
DEBILIDAD	SC	SC	SC	SC	SC	SC
INT. EJERC.	SC	↑	SC	SC	SC	SC
DERMATOL.	SC	SC	N	N	↓Alopecia	N
DIST. ABDOM.	SC	SC	N	SC	SC	SC
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+	+
ESTIMUL. ACTH	18 µg/dl	39 µg/dl	9,4 µg/dl	7,65 µg/dl	8,85 µg/dl	5,1 µg/dl
TRILOSTANO	1mg/kg/12 h	1,7mg/kg /12h			NO	NO
ENF. CONCUR.		Dolor EPI Tos			IC + Artrosis+ dermatitis	

**TABLA R19:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N= normalizado.

#### 5.6.1.2. Sin tratamiento con trilostano

Constituido por 4 perros.

Ninguno de ellos manifestaba intolerancia al ejercicio, debilidad, ni jadeo. Todos estaban activos y alerta. Ninguno presentaba distensión abdominal ni manifestaba síntomas neurológicos ó déficits en la visión.

P12 mantenía el peso, mientras que P2 y P7 lo habían incrementado un 2,44% y un 2,1% respectivamente. P11 había disminuido de peso un 2,4%. P7 tenía un leve grado de alopecia en un flanco y P11 presentaba menos alopecia y la piel menos fina.

Las analíticas de P7, P11 y P12 eran normales. P2 mostraba un descenso del colesterol (278 mg/dl) y de la FA (128 UI/L). Las hormonas tiroideas estaban en todos los casos dentro de los límites fisiológicos.

Los valores del cortisol post-estimulación mostraban una media de  $7,75 \pm 1,91$  µg/dl, en un rango de 5,1-9,4 µg/dl.

### **5.6.1. Perros con macroadenoma hipofisario**

#### **5.6.1.1. Con tratamiento de apoyo con trilostano**

Pertenecían a este grupo en este momento P1 y P3. Las dosis de trilostano no habían variado.

Ambos mostraban debilidad y algo de letargia, más marcadas en P1. La ingesta de agua de P1 era normal, con un valor de 43,48 ml/kg/24h, y en P3 había una manifiesta PD/PU con una ingesta de 312,5 ml/kg/24h. Ambos tenían un apetito normal y ninguno mostraba distensión abdominal.

P1 presentaba un incremento de peso de un 1,32% y P3 un descenso de 8,6%. Mientras la exploración neurológica de P3 no mostró anomalía, en P1 se observó que conservaba el reflejo pupilar del ojo izquierdo negativo mientras que en el ojo derecho comenzaba a enlentecerse. Mostraba una leve letargia, pero mantenía el resto de la exploración neurológica normal. Las cataratas del ojo izquierdo se habían incrementado.

La analítica de orina de P3 indicaba una proteinuria leve, con 30 g/L y nitritos, una densidad de orina de 1.004 y un cultivo de orina positivo sensible a cefalosporinas. Se administró una dosis de cefovecina (8mg/kg) para tratar su infección. No se incrementó la dosis de trilostano (2,3 mg/kg/12h) ya que la polidipsia y el decaimiento se atribuyó a la infección que presentaba.

La hembra (P3) ahora era completamente canela, con cabos gris oscuro-negro, como se observa en la figura R7.

Los valores de cortisol plasmáticos tras la estimulación con ACTH fueron de 27,2 µg/dl en P1 mientras que P3 mostraba un cortisol de 15,1 µg/dl, en ambos casos se había retirado el trilostano días previos a la revisión. En P1 la TSH era de 0,04 ng/ml.

A los 13 meses, un mes después de esta revisión, nos comunicaron que P1 había sido eutanasiado por la aparición de sintomatología neurológica, que se caracterizó por la presencia de llanto, pressing, debilidad, anorexia, incapacidad para sortear obstáculos y obnubilación, que fueron apareciendo paulatinamente a lo largo de un mes. La supervivencia fue de 410 días y murió con una edad de 9 años y 8 meses. No se dispuso del cadáver.

<b>PERROS CON MACROADENOMAS</b>		
<b>EVOLUCIÓN</b>	<b>P1</b>	<b>P3</b>
<b>PESO</b>	↓1,32%	↑8,6%
<b>PD/PU</b>	↓ 43,5ml/kg/d	↑312,5ml/kg/d
<b>APETITO</b>	N	N
<b>JADEO</b>	NO	NO
<b>DEBILIDAD</b>	↑	↑
<b>INTOL. EJER.</b>	↑	↑
<b>ACTITUD</b>	Letargia	Activa
<b>DERMATOL.</b>	Alopecia	+ oscura
<b>DIST. ABDO.</b>	↑	SC
<b>SIGNOS SNC</b>	Tt amen. lento	NO
<b>VISTA</b>	CATARATAS	N
<b>REF. PUPILAR</b>	OI – OD lento	+
<b>TRILOSTANO</b>	2 mg/kg/12h	SC
<b>ENF CONCUR</b>	HIPOTIROIDISMO	ITU

**TABLA R20:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N= normalizado.

#### 5.6.1.2. Sin tratamiento con trilostano

A los 11 meses del tratamiento el paciente con hipoadrenocorticism (P10) mostraba sintomatología neurológica severa, con quejidos (por dolor), pressing, deambulación sin rumbo, letargia, obnubilación y desconexión, debilidad marcada, anorexia y ausencia de respuesta al test de la amenaza, reflejos pupilares muy lentos y respuesta lenta en los test postural de propiocepción en ambos lados. Se le realizó eutanasia, teniendo en ese momento una edad de 9 años y 7 meses. Su supervivencia fue de 348 días.

## 5.7. Año y medio tras la RCGK

### 5.7.1. Perros con microadenoma hipofisario

#### 5.7.1.1. Sin tratamiento con trilostano

De los 5 perros con microadenomas que se mantenían vivos ninguno de ellos continuaba con el tratamiento con trilostano.

Todos estaban alerta y activos, solo n=1 (P4) presentaba intolerancia al ejercicio, polifagia y PD/PU. Ninguno tenía debilidad, ni jadeo, no evidenciándose distensión abdominal, sintomatología neurológica ni déficits en la visión.

Aumentaron de peso (n=3) (en la tabla 20 se exponen los porcentajes individuales), una media de  $2,64\% \pm 1,51$ , mientras que n=1 (P4) disminuyó de peso un 0,36% y n=1 (P12) mantuvo el mismo peso. Sólo n=1 (P11) tenía dermatitis, con la piel menos fina pero con alopecia, y que correspondía a la misma hembra que solía presentar problemas de atopias. P7 ya no mostraba alopecia.

Los resultados de la analítica eran normales en dos de los casos. El caso P4, una hembra en estro, mostraba hiperglucemia, por lo que se recomendó realizar una curva de glucemia (glucosa 170 mg/dl), y además había aumentado sus niveles de colesterol (530 mg/dl), FA (752 UI/L) y ALT (258 UI/L).

El caso P2 mostró incremento de los niveles de FA (260 UI/L) y de colesterol (320 mg/dl). P7 presentaba solo aumento del nivel de colesterol (260 mg/dl), pero aún se mantenía en un rango normal.

Los resultados de la estimulación con ACTH mostraban una media de  $7,24 \mu\text{g/dl} \pm 1,97$ , en un rango de 5 -15,6  $\mu\text{g/dl}$ .

A P4, la hembra en celo con diabetes, se le recomendó una ovariectomía, realizándosele antes de la siguiente revisión. Tras la castración la glucemia se normalizó, así como los valores de estimulación con ACTH (11,9  $\mu\text{g/dl}$ ).

PERROS CON MICROADENOMAS					
	SIN TRILOSTANO				
EVOLUCIÓN	P4	P2	P7	P11	P12
PESO	↓0,36%	↑1,2%	↑4,2%	↑2,5 %	SC
PD/PU	↑	SC	SC	SC	SC
APETITO	↑	SC	SC	SC	SC
JADEO	SC	SC	SC	SC	SC
DEBILIDAD	SC	SC	SC	SC	SC
INT. EJERC.	↑	SC	SC	SC	SC
DERMATOL.	SC	N	N	↓Alopecia ↓comedón ↓pigmentación ↓piel fina	N
DIST. ABDOM.	SC	SC	SC	SC	SC
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+
ESTIMUL. ACTH	12 µg/dl	15,2 µg/dl	8,02 µg/dl	8,7 µg/dl	5 µg/dl
TRILOSTANO	NO	NO	NO	NO	NO
ENF. CONCUR.	Diabetes?			IC + Artrosis+ dermatitis+ periodontitis	

**TABLA R21:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N= normal.

### 5.7.2. Perros con macroadenoma hipofisario

#### 5.7.2.1. Sin tratamiento de apoyo con trilostano

P3, hembra de raza Lasha apso, era ya la única representante del grupo de los macroadenomas, mostrando un color de la capa más oscuro que en la visita anterior. A los 15 meses del tratamiento realizó una visita de control y se le retiró el tratamiento con trilostano porque sus datos de estimulación estaban muy bajos, apreciándose un cortisol post-estimulación de 1,36 µg/dl. En esa misma revisión se detectó un soplo cardíaco (grado II-III/VI) que en la consulta de cardiología se diagnosticó como insuficiencia mitral debida a endocardiosis valvular crónica.

En esta visita se mantenía alerta, no presentaba intolerancia al ejercicio, no jadeaba y se mostraba enérgica y activa. Había disminuido de peso un 34,38% en 6 meses y su apetito era caprichoso. Sin embargo volvía a presentar PD/PU con una ingesta diaria de agua de 317,46 ml/kg. Se realizó una ecografía abdominal y se apreciaron cálculos vesicales que se extrajeron quirúrgicamente 2 meses después de esta revisión (a los 20 meses de la RCGK).

## Resultados

La exploración neurológica no mostraba alteraciones de los pares craneales, de la propiocepción, ni alteraciones en la visión.

Sin embargo el cortisol plasmático tras la estimulación con ACTH era de 8,65 µg/dl.



**Figura R7:** P3 muestra cambio de color a lo largo del tiempo. A la izquierda P3 el día del tratamiento y a la derecha P3 1 año después del tratamiento. Ha oscurecido su capa.

### 5.8. Dos años tras la RCGK

#### 5.8.1. Perros con microadenoma hipofisario

##### 5.8.1.1. Sin tratamiento con trilostano

Se mantuvieron en este grupo los mismos pacientes que 6 meses antes.

La evolución del peso fue la siguiente: n=1 (P12) mantenía su peso, n=3 aumentaron de peso una media de  $4,27\% \pm 4,23$ , en un rango de 1,17 a 9,1%, n=1 (P7) disminuyó de peso un 0,68%.

Solo P2 (n=1) mantenía un poco distendido el abdomen y era la única que presentaba un aumento de PD/PU y del apetito. P4 (n=1) mostraba cierto grado de intolerancia al ejercicio con claudicación de la extremidad posterior derecha. Ninguno (n=5) mostraba debilidad ni jadeo. (n=1) P4 había disminuido la PD/PU y el apetito.

Todos (n=5) se mantenían atentos, alerta, con actividad. Ninguno presentaba signos relacionados con SNC ni déficits de la visión.

(n=3) mostraban analíticas normales. P2 tenía hiperglucemia en la analítica (240 mg/dl). P4 evidenciaba una disminución de los niveles de colesterol (399 mg/dl), FA (325 UI/L) y ALT (67 UI/L).

A P2 se le realizó una curva de glucemia y se le diagnosticó de diabetes mellitus, iniciando tratamiento con insulina.

Los niveles de cortisol tras la estimulación con ACTH mostraban una media de  $11,9 \pm 4,4$   $\mu\text{g/dl}$ , con un rango de  $4,3 - 15,8$   $\mu\text{g/dl}$ .

PERROS CON MICROADENOMAS					
	SIN TRILOSTANO				
EVOLUCIÓN	P4	P2	P7	P11	P12
PESO	↑9,1%	↑1,17%	↓0,68 %	↑2,56 %	SC
PD/PU	↓	↑	SC	SC	SC
APETITO	↓	↑	SC	SC	SC
JADEO	SC	SC	SC	SC	SC
DEBILIDAD	SC	SC	SC	SC	SC
INT. EJERC.	SC	SC	SC	SC	SC
DERMATOL.	SC	N	N	No Alopecia ↓comedón	N
DIST. ABDOM.	SC	SC	SC	SC	SC
SIGNOS SNC	NO	NO	NO	NO	NO
VISTA	N	N	N	N	N
REF. PUPILAR	+	+	+	+	+
ESTIMUL. ACTH	12 $\mu\text{g/dl}$	15,2 $\mu\text{g/dl}$	8,02 $\mu\text{g/dl}$	8,7 $\mu\text{g/dl}$	5 $\mu\text{g/dl}$
TRILOSTANO	NO	1mg/kg/12h	NO	NO	NO
ENF. CONCUR.	Artrosis	Diabetes		IC + Artrosis+ dermatitis+ periodontitis	

**TABLA R22:** Evolución de la sintomatología tras el tratamiento: ↓ (disminuye), ↑ (aumenta), SC= sin cambios, NO= nunca tuvo ese síntoma, += respuesta positiva, N=normalización.

## 5.8.2. Perros con macroadenoma hipofisario

### 5.8.2.1. Sin tratamiento con trilostano

Pasados 21 meses del tratamiento inicial P3 acudió a revisión, siendo en este momento el color de su pelo completamente gris. Había disminuido de apetito y de peso un 3,27%, siendo su condición corporal de 3/9. Tras la cirugía de cálculos vesicales, recomendada en la revisión anterior, se normalizó su PD/PU (ingesta de 42 ml/kg/24h).

Mantenía una actitud alerta y reactiva. No presentaba intolerancia al ejercicio ni debilidad. En la exploración neurológica los reflejos pupilares tanto directos como indirectos en ambos ojos estaban enlentecidos.



En esta revisión, a los 24 meses, era casi negra. En 3 meses había perdido un 27,08% de su peso y mostraba una condición corporal de 2/9.

Presentaba signos neurológicos caracterizados por letargia, desorientación y con reflejo de la propiocepción en la extremidad posterior derecha lento, lo que indicaba una afectación del hemisferio izquierdo, siendo los reflejos pupilares aún más lentos en ambos ojos y el reflejo palpebral era normal. El soplo cardíaco había aumentado (grado III-IV/VI) y la hipertensión arterial no se había podido controlar con la medicación. Los dueños solicitaron la eutanasia, teniendo en cuenta que estaba todo el día postrada y desconectada del mundo que le rodeaba, aletargada con anorexia y casi adipsia. En el momento de la eutanasia estaba emaciada. La edad en este momento era de 10 años y 2 meses. Se realizó necropsia.

Su supervivencia desde que se efectuó el tratamiento fue de 25 meses y en días 751.



**Figura R8:** P3 el día de su eutanasia, se aprecia la emaciación y su cambio de color con respecto a la figura R7.

## 6. Supervivencia de los animales

Tras el seguimiento reglado hasta los 24 meses solo continuaban vivos 5 perros que siguieron realizando revisiones periódicas en las que se seguía evaluando su estado general, se realizaba una exploración completa y neurológica, además de recopilar datos analíticos y los niveles de cortisol plasmático pre y postestimulación con ACTH.

La paciente P11, una Yorkshire terrier con 12 años y 3 meses de edad, fue eutanasiada debido a una insuficiencia renal avanzada con azotemia a los 821 días de la RCGK, (en meses= 28). A lo largo de su evolución se le detectó una insuficiencia mitral debida a endocardiosis crónica y

con el tiempo desarrolló una insuficiencia renal. Nunca mostró signos neurológicos, ni deficiencias auditivas o visuales. No dispusimos del cadáver para realizar la necropsia y la toma de muestras.

La Schnauzer miniatura, P2, fue eutanasiada con 12 años y 3 meses de edad, 34 meses después de la RCGK. La diabetes mellitus diagnosticada a los 24 meses tras la RCGK mostraba resistencia a la insulina. A los 28 meses, 4 meses después del diagnóstico de diabetes, presentaba cataratas diabéticas maduras en ambos ojos por lo que la visión se afectó. Nunca abandonó el tratamiento con trilostano. No desarrolló sintomatología nerviosa. No tuvimos acceso al cadáver, aunque los datos clínicos aportados apuntan como causa de la muerte a una pancreatitis aguda complicada con insuficiencia renal. Su supervivencia expresada en días fue de 1034 días.

La perra P4, de raza Husky, tampoco mostró signos neurológicos. Durante un tiempo manifestó un estado prediabético semanas antes del estro que desapareció tras realizar una ovariectomía. No volvió a presentar sintomatología endocrinológica. Se eutanasió debido a una artrosis muy avanzada que le provocaba dolor y la mantenía incapacitada y con úlceras de decúbito. Su edad en el momento del deceso era 15 años y medio. No dispusimos del cadáver. Su supervivencia fue de 48 meses, en días 1457.

El perro P7, el mestizo de Yorkshire terrier, tuvo una supervivencia de 46 meses, expresada en días fue de 1446. La edad a la que se realizó la eutanasia fue de 13 años y 10 meses. Este perro, una vez pasados los 24 meses, ya no acudía a las revisiones regularmente y tras 5 meses sin contacto recibimos un mensaje de su propietario indicándonos la fecha de la eutanasia. Nos comentó que nunca presentó problemas relacionados con HAC. El motivo de la eutanasia fue una insuficiencia cardíaca congestiva.

P12, de raza Spaniel bretón, sigue aún con vida. Cuenta con una edad de 15 años y medio, si bien, las revisiones se realizan en otro centro fuera de Madrid. En una ecografía obtenida 3 años después de la RCGK se observó atrofia adrenal, aunque no ha llegado a desarrollar hipoadrenocorticismos, ni hipotiroidismo. Actualmente está diagnosticada de déficit cognitivo senil y presenta sordera, ceguera y cierto grado de desorientación.

Los perros que han muerto hasta ahora son 11 y las causas de eutanasia han sido: n=4 recidiva tumoral con síntomas neurológicos, en dos de ellos con azotemia asociada; n=2 debido a pancreatitis aguda, uno de ellos además con insuficiencia renal aguda, n=1 artrosis, n=1 motivos socioeconómicos asociados con el mantenimiento del trilostano, n=1 insuficiencia renal y cardíaca congestiva, n=1 insuficiencia cardíaca congestiva, n=1 sintomatología neurológica asociada con radionecrosis hipotalámica.

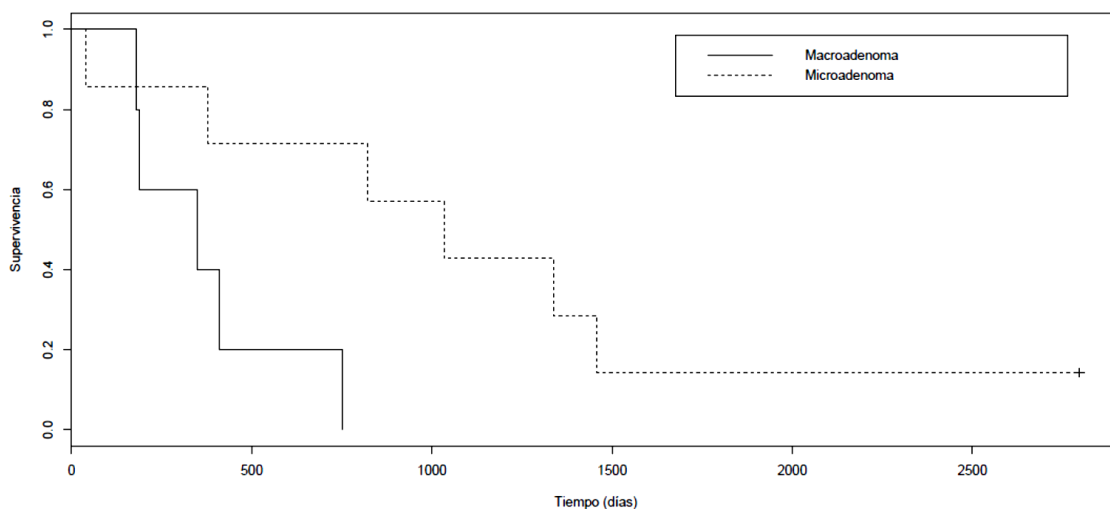
En el grupo de microadenomas la media de supervivencia en meses ha sido de  $38,86 \pm 33,16$  meses, con un rango de 1 mes a 48 meses. Expresada en días la media es de  $1123,71 \pm 893,36$  días, en un rango de 40 a 2798 días.

La supervivencia media del grupo de macroadenomas ha sido de  $12 \pm 8$  meses, en un rango de 5 – 25 meses, y en días de  $375,8 \pm 232,14$  días (181- 751 días).

DIAGN.	PERROS	Raza	Edad defunción	Supervivencia en meses	Supervivencia en días
<b>PERROS CON MACROADENOMA</b>	P1	Cocker spaniel	9 a 8 m	13	410
	P3	Lasha apso	10 a 2 m	25	751
	P5	Bóxer	8 a 8 m	6	189
	P6	Cocker spaniel	12 a 3 m	5	181
	P10	Bóxer	9 a 7 m	11	348
<b>PERROS CON MICROADENOMA</b>	P2	Schnauzer mini	12 a 3 m	34	1034
	P4	Husky siberiano	15 a 6m	48	1457
	P7	Mestizo YST	13 a 10 m	46	1446
	P8	Caniche	13 a 11 m	1	40
	P9	Mestizo Husky	12 a 6 m	13	379
	P11	Yorkshire terrier	12 a 3 m	28	821
	P12	Spaniel bretón	<b>VIVE (15,5 a)</b>	93	2798

**TABLA 23.** Supervivencia de los perros tras el tratamiento expresada en meses y días.

El estudio estadístico de Kaplan-Meier indica que existe una relación estadísticamente significativa ( $p= 0.027$ ) entre la supervivencia y el tamaño tumoral, de tal manera que los macroadenomas muestran una supervivencia menor que los microadenomas.



**Figura R8:** gráfica de supervivencia de Kaplan-Meier, diferenciando macroadenomas y microadenomas. Censurado P12 que aún vive.

## 7. Evolución de las hormonas tras la radiocirugía

A continuación se muestran los niveles séricos de las hormonas hipofisarias y la evolución en conjunto de los resultados de la estimulación con ACTH de los perros en las sucesivas revisiones tras la radiocirugía.

### 7.1. Hormona adrenocorticotropa (ACTH)

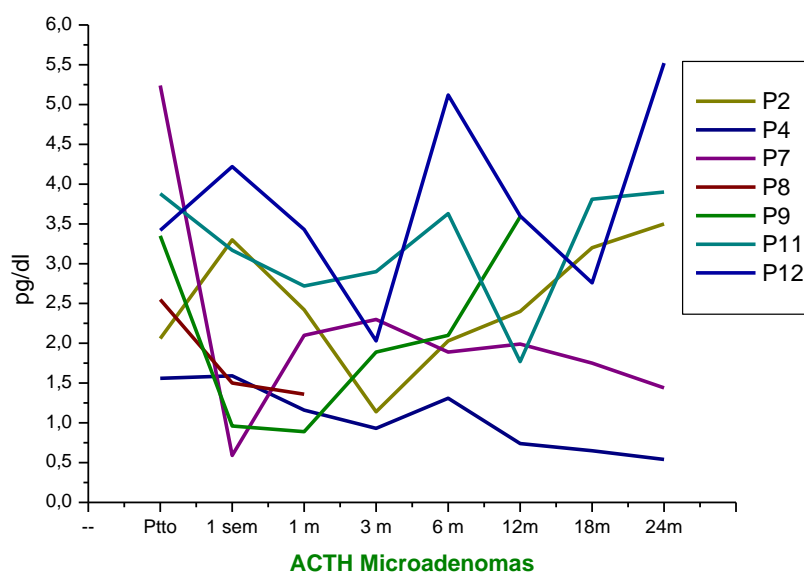
En general, la ACTH muestra una evolución con tendencia a disminuir a lo largo del tiempo. A la semana de tratamiento en 8 casos se observó una tendencia al alza de los niveles de ACTH, con posterior disminución paulatina en el tiempo tras ese pico. En el resto de los perros la tendencia fue a la disminución desde el primer momento. La tendencia a la baja fue corroborada por el estudio de la pendiente en el modelo estadístico.

El valor medio de la ACTH endógena de los perros del estudio antes del tratamiento era de  $2,4 \pm 1,41$  pg/dl (0,81 – 5,24 pg/dl). El valor medio obtenido en los perros Beagle fue de 0,35 pg/dl  $\pm 0,18$  y con un rango de referencia de 0,1 a 0,58 pg/dl.

Los **microadenomas** (n=7) presentaron una concentración media de ACTH endógena antes del tratamiento de  $3,15 \pm 1,23$  pg/dl, con un rango de 1,56 a 5,24 pg/dl.

A los 6 meses estos valores presentaron una media de  $2,68 \pm 1,42$  pg/dl, con un rango de 1,31 a 5,12 pg/dl (para n= 6). Estos valores a los dos años (n= 5) fueron: una media de  $2,98 \pm 1,99$  pg/dl, en un rango 0,54- 5,52 pg/dl. Solo P4 a los 24 meses cayó por debajo del valor máximo de referencia situándose en 0,54 pg/dl. Ninguno de los otros pacientes mostró un valor por debajo

de ese límite. En la gráfica H1 se muestran los valores de la ACTH endógena de los perros con microadenomas antes y a lo largo de su evolución postratamiento.



**Gráfica H1.** Representación de los valores plasmáticos de la ACTH endógena a lo largo de las revisiones de los perros con microadenoma hipofisario.

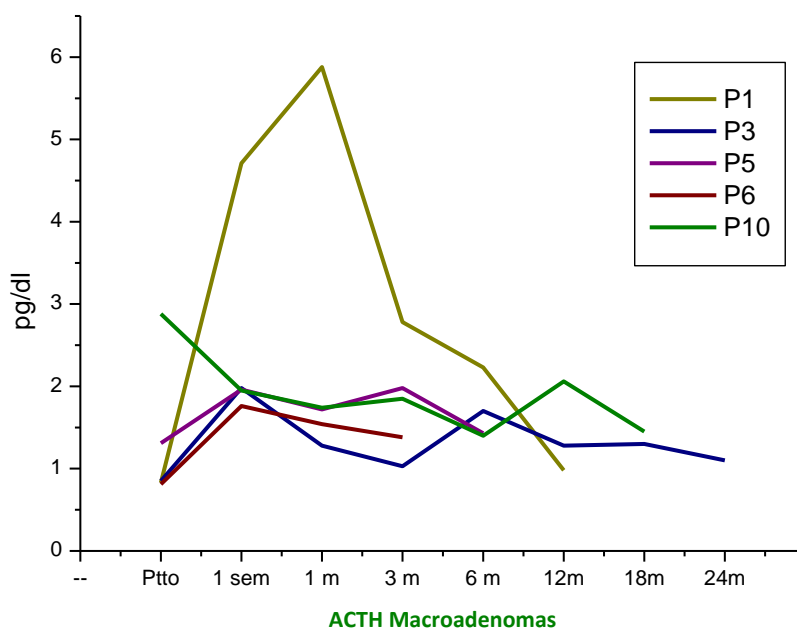
En la gráfica H1 observamos la evolución de la ACTH en los microadenomas y como P9 a partir del tercer mes tiene una tendencia a aumentar, mientras que en el resto de los casos se mantiene en valores por encima del rango de referencia con una secreción que parece ser pulsátil.

Los valores para el grupo de **macroadenomas** antes del tratamiento mostraron una media de  $1,34 \pm 0,89$  pg/dl, con un rango de 0,81-2,88 pg/dl (n=5)

A los 6 meses la media de este grupo fue de  $1,69 \pm 0,38$ , en un rango de 1,4- 2,23 pg/dl (n=4). A los 18 meses de  $1,38 \pm 0,11$  pg/dl (1,3-1,45 pg/dl) (n=2). A los 24 meses P3 mostraba un valor de 1,1 pg/dl.

En ninguno de los perros con macroadenoma los valores de la ACTH endógena disminuyeron por debajo del valor máximo de referencia, pero todos mostraron una tendencia a disminuir más evidente a partir del primer mes tras el tratamiento.

El caso P10, el perro con hipoadrenocorticism, mantiene valores dentro del rango en los 6 primeros meses postratamiento, a partir del año comienzan a aumentar, y sin embargo cuando comienza a mostrar la sintomatología neurológica estos valores vuelven a disminuir levemente dentro del rango de referencia.



**Gráfica H2.** Representación de los valores plasmáticos de la ACTH endógena a lo largo de las revisiones de los perros con macroadenoma hipofisario.

## 7.2. Hormona estimulante de los melanocitos ( $\alpha$ -MSH)

El valor medio de los niveles de  $\alpha$ -MSH en los perros del estudio antes del tratamiento fue de  $5,4 \pm 1,41$  pg/ml, con un intervalo entre 0,002 pg/ml y 49,76 pg/ml. Los valores de referencia de esta hormona se establecieron entre 1,5 y 18,0 pg/ml, con una media de  $19,2 \pm 8,3$  pg/ml.

En los perros del estudio los niveles plasmáticos de esta hormona a lo largo del seguimiento fueron estudiados estadísticamente mediante modelos lineales mixtos, mostrando en las pendientes estimadas (0.0557) una tendencia creciente en los niveles de esta hormona para todos los perros. Este mismo estudio mostró además una asociación estadísticamente significativa entre el tiempo transcurrido y los niveles de  $\alpha$ -MSH (chi-cuadrado = 10.046, gl = 1, p = 0.001527).

No obstante, la evolución de los niveles de esta hormona se ven mejor en las gráficas correspondientes a cada tipo neoplásico que hemos seguido hasta ahora (microadenomas vs macroadenomas).

Meij y sus colaboradores (1997) apuntan que los niveles de esta hormona deben situarse por debajo de 60 pg/ml. En los Beagle estos valores mostraron una media de  $19,2 \pm 3,2$  pg/ml (8,3 - 18,0 pg/ml)

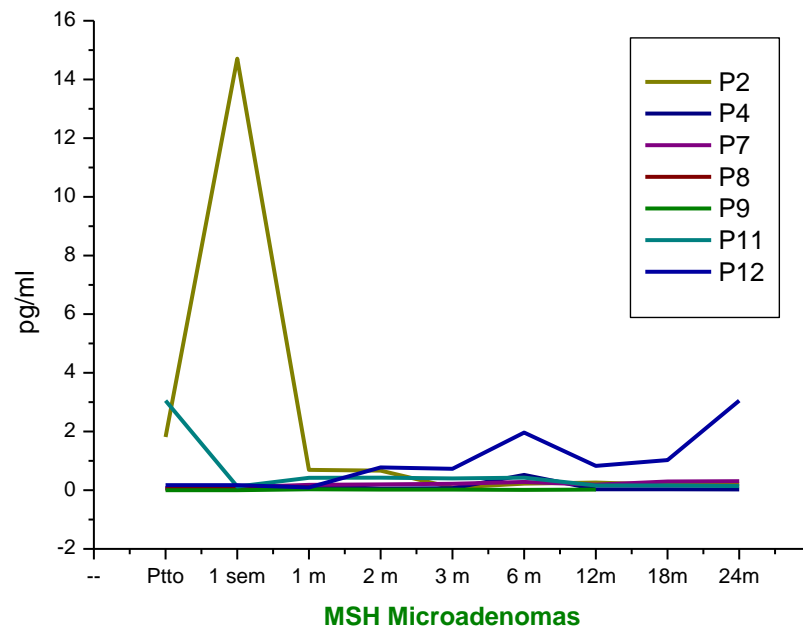
En el caso de los microadenomas los valores medios en el periodo pretratamiento se situaron en  $0,75 \pm 1,21$  pg/ml (0,02-3,05 pg/ml).

A los 3 meses, n=7, los niveles de  $\alpha$ -MSH (n=7) se situaban en una media de  $0,25 \pm 0,27$  pg/ml (0,02-0,4 pg/ml). A los 12 meses, n= 5, los valores medios eran  $0,3 \pm 0,31$  pg/ml (0,03-0,83 pg/ml) y a los 24 meses la media se situaba en  $0,75 \pm 1,29$  pg/ml en un rango de 0,03 a 3,05 pg/ml.

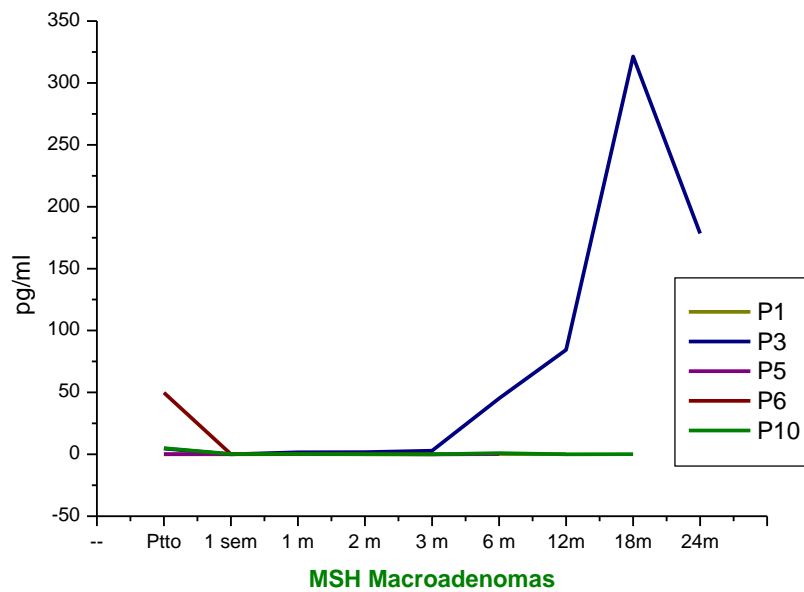
Los microadenomas apenas mostraron variaciones en los niveles de esta hormona a lo largo de su evolución, siendo sutilmente al alza en algunos pacientes como se puede observar en la gráfica H3.

En los macroadenomas, la media pretratamiento presentaba unos valores de  $11,91 \pm 21,29$  pg/ml, en un rango de 0,015- 49,76 pg/ml.

A los tres meses estos valores se situaban en  $0,63 \pm 1,29$  (0,01-2,94), habiendo mostrado una disminución respecto al nivel hormonal anterior a la RCGK. A los 12 meses los valores se incrementaron hasta alcanzar una media de  $28,2 \pm 48,7$  pg/ml (0,05-84,44 pg/ml). La principal responsable de este incremento fue P3, quien a los 18 meses mostraba un valor de 321,39 pg/ml y a los 24 meses 178,78 pg/ml (paciente Lasha apso que mostró cambios de coloración paulatinos de la capa ya desde el 6º mes tras el tratamiento).



**Gráfica H3.** Representación de los valores plasmáticos de la ACTH endógena a lo largo de las revisiones de los perros con microadenoma hipofisario.



**Gráfica H4.** Representación de los valores plasmáticos de la  $\alpha$ -MSH a lo largo de las revisiones de los perros con macroadenoma hipofisario.



### 7.3. ADH o VASOPRESINA

Antes del tratamiento el valor medio de los niveles de ADH de los perros del estudio fue de  $1,9 \pm 1,07$  ng/ml con una variación entre 0,01 ng/ml y 3,27 ng/ml. Los valores de referencia obtenidos en el laboratorio en los Beagle se mantuvieron en una media de  $0,74 \pm 2,98$  ng/ml, en un rango de 0,1 a 1,4 ng/ml. La media general tras el tratamiento se situó más o menos por encima de ese rango de referencia en  $1,83 \pm 1,29$  ng/ml, con un intervalo de 0,01-6,32 ng/ml. Esta hormona no presentó variaciones estadísticamente significativas a lo largo del tiempo ni en relación con el tamaño neoplásico.

Los perros con microadenomas (n=7) mostraron una media pretratamiento de  $1,43 \pm 1,11$  ng/ml, con un rango de 0,01-3,05 ng/ml.

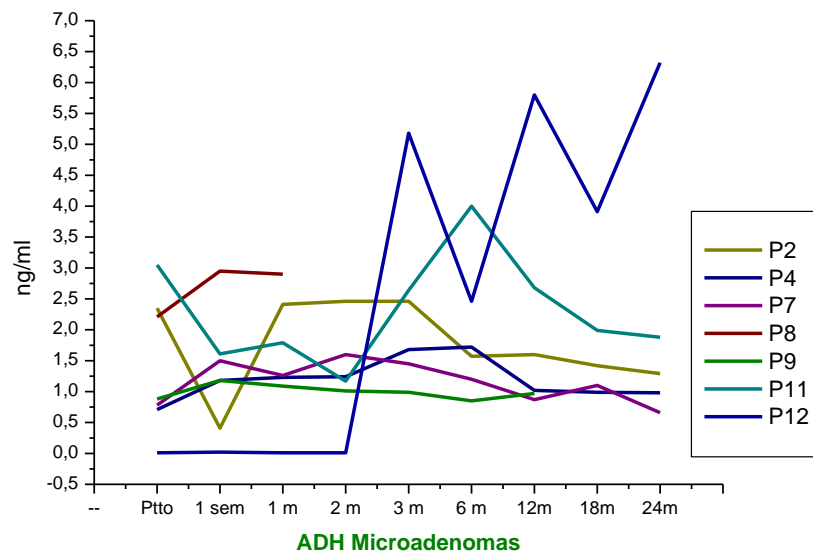
A los 3 meses el valor medio era de  $2,4 \pm 1,5$  (0,99-5,18 ng/ml) para n=6, a los 12 meses de  $2,16 \pm 1,91$  (0,87-5,8) para n=5 y a los 24 meses de  $2,23 \pm 2,33$  (0,66-6,32 ng/ml) para n=5. El máximo lo exhibía el perro P12 que alcanzó a los 24 meses post RCGK los 6,32 ng/ml, que además muestra más variación en su evolución como puede observarse en la gráfica H7. El resto de estos pacientes mostraron unos niveles variables a lo largo del tiempo consecuente con una secreción pulsátil.

El grupo de macroadenomas (n=5) mostró unos valores pretratamiento de  $2,57 \pm 0,63$  con una variación de 0,04-3,27 ng/ml.

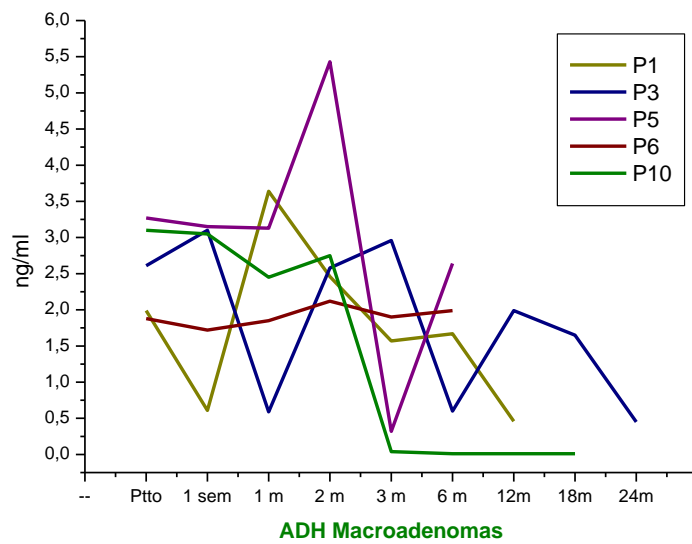
Estos valores a los 3 meses, para n=5, eran de media  $1,36 \pm 1,20$  (0,04-2,96). A los 12 meses, para n=3, los niveles medios se situaban en  $0,82 \pm 1,04$  ng/ml, dentro de un rango de 0,04 ng/ml a 2,96 ng/ml. Y a los 24 meses P3 mostraba un valor de 0,45 ng/ml.

Entre los macroadenomas, los valores mínimos se encontraron en los 0,01 del P10, el paciente con hipoadrenocorticism, con tendencia a disminuir a partir del tercer mes tras la RCGK.

La mayoría de los animales muestran valores por encima de los de referencia a lo largo de toda la evolución posterior al tratamiento, por lo que la radiocirugía no afectó a los niveles de esta hormona a lo largo del tiempo.



**Gráficas H5.** Representación de los valores séricos de la ADH a lo largo de las revisiones de los perros con microadenoma.



**Gráficas H6.** Representación de los valores séricos de la ADH a lo largo de las revisiones de los perros con macroadenoma.

#### 7.4. PROLACTINA

El valor medio de los niveles de prolactina en esta serie de casos incluida en el estudio fue de  $4,51 \pm 14,1$  ng/ml, en un rango de 0,41 ng/ml a 5,19 ng/ml. Los valores de prolactina determinados como fisiológicos con los Beagle fueron de 2-6 ng/ml, con una media de  $2,9 \pm 1,89$  ng/ml.

Los modelos lineales estadísticos de efectos mixtos realizados mostraron una asociación estadísticamente significativa entre el tiempo transcurrido desde el tratamiento y los niveles de prolactina (chi-cuadrado = 11.318, gl = 1, p = 0.0007677). Las pendientes estimadas en estos casos tuvieron una tendencia decreciente en los niveles de prolactina (-0.006043), aunque como se ha referido anteriormente en otras hormonas, el efecto del tamaño del adenoma no mostraba una correlación significativa.

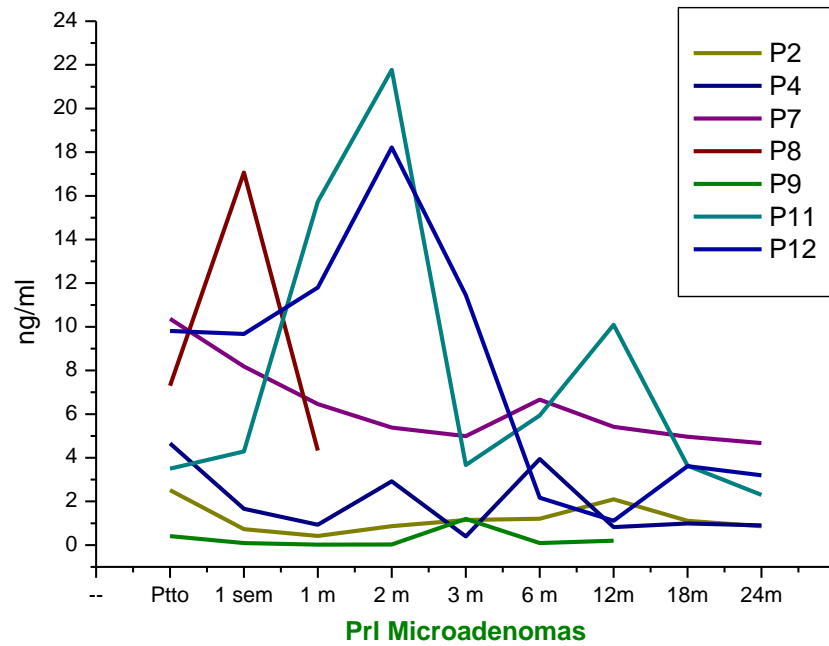
Los perros con microadenoma tenían una media pretratamiento de  $5,51 \pm 3,76$  ng/ml en un rango de 0,41 a 9,81 ng/ml, para n=7.

A los 3 meses esa media, para n=6, era de  $3,81 \pm 4,13$  ng/ml, con un rango de 0,4 a 11,45 ng/ml. Una vez cumplido el año tras el tratamiento, con n=5 perros, la media se situaba en  $3,21 \pm 3,91$  ng/ml, en un rango que iba de 0,82 a 10,09 ng/ml. A los 24 meses, n=5, la media estaba en  $2,39 \pm 1,61$  ng/ml (0,9 a 4,67 ng/ml).

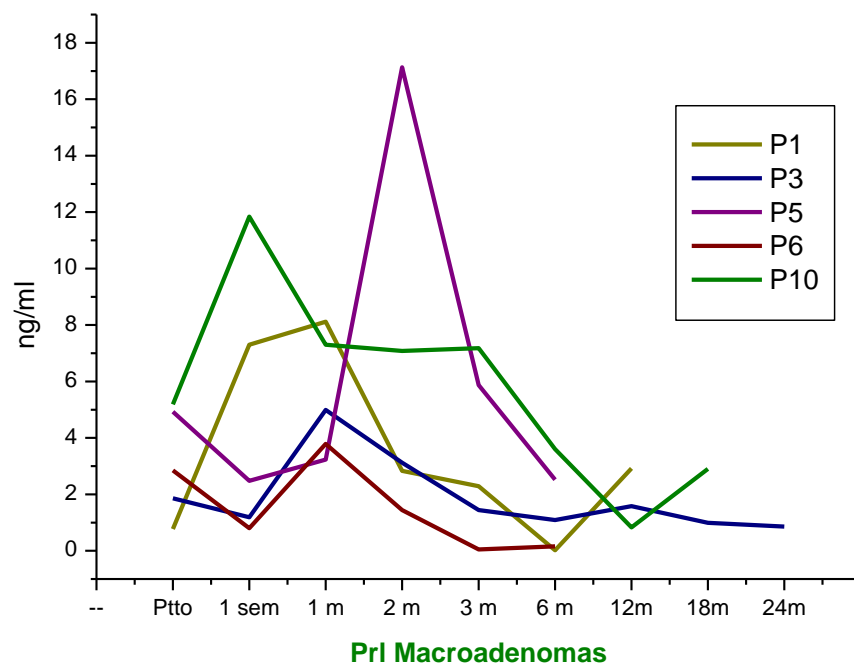
Los macroadenomas mostraron un valor medio pretratamiento de  $3,12 \pm 1,92$ , para n=5, en un rango de 0,77 a 5,19 ng/ml. A los 3 meses (n=5) se situó en  $3,39 \pm 3,0$  ng/ml entre unos valores mínimo y máximo de 0,16 a 7,18 ng/ml.

A los 12 meses (n=3) la media fue de  $2,47 \pm 0,77$  ng/ml, entre unos límites de 1,58 a 2,9 ng/ml. A los 24 meses para P3, única representante del grupo en ese momento, el valor fue de 0,86 ng/ml.

En el caso de los perros con macroadenoma mostraron fluctuaciones con tendencia a la baja a lo largo de la evolución, y permaneciendo durante cortos periodos de tiempo en valores inferiores a los fisiológicos. La media general de este grupo estuvo en  $3,68 \pm 3,57$  ng/ml, en un rango de 0,02 a 17,13 ng/ml.



**Gráfica H7.** Representación de los valores plasmáticos de prolactina a lo largo de las revisiones de los perros con microadenoma hipofisario.



**Gráfica H8.** Representación de los valores plasmáticos de prolactina a lo largo de las revisiones de los perros con macroadenoma hipofisario.

### 7.5. HORMONA LUTEINIZANTE (LH)

El valor medio de los niveles de LH en los perros del estudio antes del tratamiento fue de  $16,06 \pm 40,55$  ng/ml ( $0,22$  ng/ml –  $143,18$  ng/ml). Los valores de referencia de la hormona luteinizante se estimaron en un rango de referencia de  $1,2$  a  $28,7$  ng/ml.

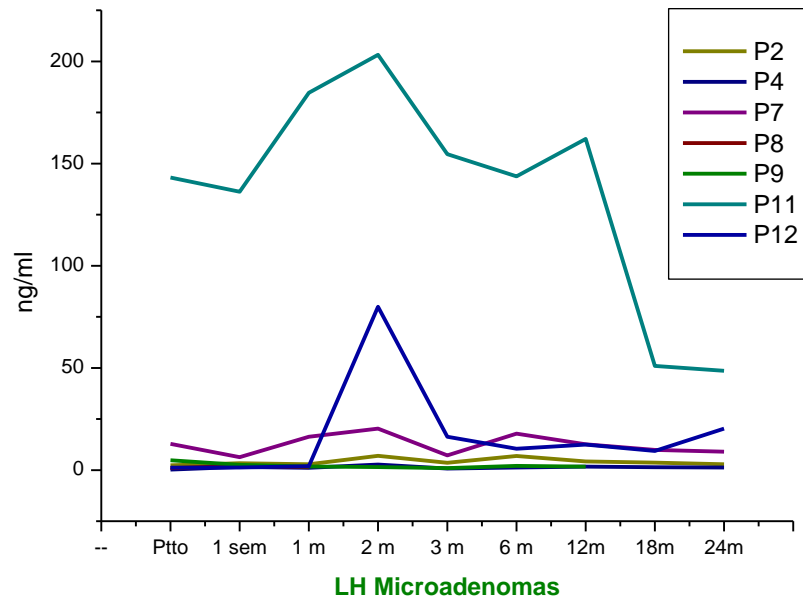
El grupo de microadenomas ( $n=7$ ) presentó una media previa al tratamiento de  $23,66 \pm 52,88$  ng/ml ( $0,22$ -  $143,18$  ng/ml).

A los 3 meses estos valores se encontraban en  $30,58 \pm 61,03$ , con una variación entre  $1,28$  y  $143,74$  ng/ml, para  $n=6$ . Los valores máximos, al igual que pretratamiento, se corresponden con la paciente P11. A los 12 meses los niveles medios mostraron un valor de  $38,63 \pm 6,17$  ng/ml, en un intervalo de  $1,69$  a  $162,06$  ng/ml, para  $n=5$ , cuyo máximo valor sigue siendo el referente a P11. A los 24 meses,  $n=5$ , la media se estimó en  $16,41 \pm 19,46$  ng/ml, con un valor mínimo de  $1,3$  ng/ml y un máximo de  $48,56$  ng/ml.

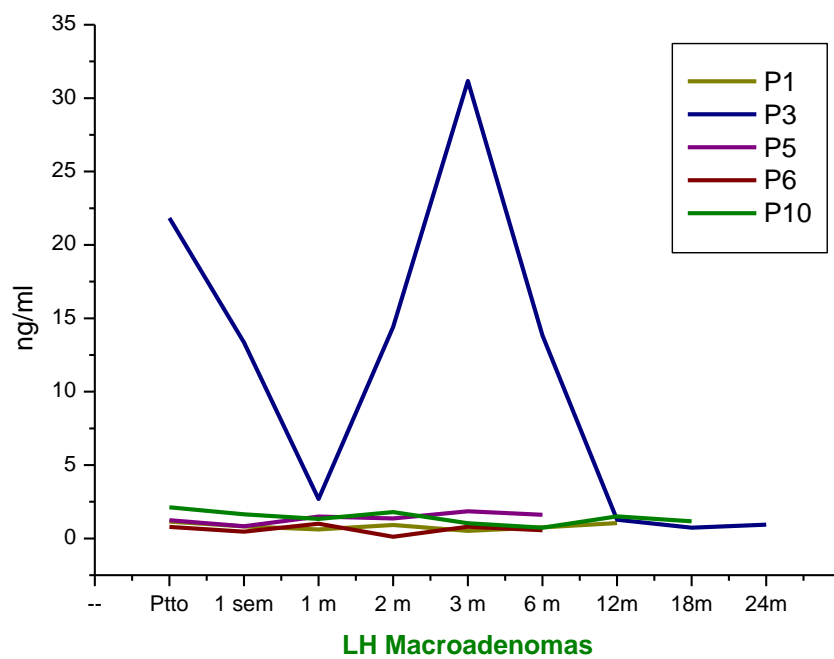
En el grupo de los macroadenomas ( $n=5$ ), la media pretratamiento fue de  $5,43 \pm 9,18$  ng/ml, en un intervalo desde  $0,79$  a  $21,83$  ng/ml.

A los 3 meses la media se situaba en  $1,08 \pm 13,48$  ng/ml ( $0,8$ - $31,17$  ng/ml) para  $n=5$ . A los 12 meses el valor medio y su desviación estándar estaban en  $1,28 \pm 0,23$  ng/ml, incluidos en un rango desde  $1,05$  ng/ml a un máximo de  $1,51$  ng/ml, para  $n=3$ . A los 24 meses, solo quedaba P3 y esta mostraba un valor de  $0,94$  ng/ml.

Esta hormona presentó los valores más constantes en el grupo de los macroadenomas, donde la media general se situó en  $3,6 \pm 6,78$  ng/ml, con un mínimo de  $0,52$  ng/ml y un máximo de  $31,17$  ng/ml, y mostrando las mayores variaciones la perra P3 antes del año tras el tratamiento, momento en que los valores caen y no vuelven a elevarse.



**Gráfica H9.** Representación de los valores séricos de hormona luteinizante (LH) a lo largo de las revisiones de los perros con microadenoma hipofisario.



**Gráfica H10.** Representación de los valores séricos de LH a lo largo de las revisiones de los perros con macroadenoma hipofisario.

## 7.6. HORMONA TIROTROPA (TSH)

Los valores medios de estos perros incluidos en el estudio antes del tratamiento con RCGK fue de  $0,24 \text{ ng/ml} \pm 0,12$ , en un rango de  $0,1 \text{ ng/ml}$  a  $0,4 \text{ ng/ml}$ . Los valores fisiológicos de referencia del laboratorio de biopatología para la hormona tirotrópica (TSH) se encuentran entre  $0,02$  y  $0,6 \text{ ng/ml}$ .

En todos nuestros perros tratados estos niveles se mantuvieron en un rango de  $0,07$  a  $0,51 \text{ ng/ml}$ , con una media general de  $0,22 \pm 0,12 \text{ ng/ml}$ , a lo largo de su evolución.

Tal como ocurrió con otras hormonas el modelo lineal de efectos mixtos realizado en el estudio estadístico de la TSH no mostró una relación significativa entre el tiempo transcurrido y los niveles de la misma, y tampoco una relación significativa con el tamaño de la neoplasia.

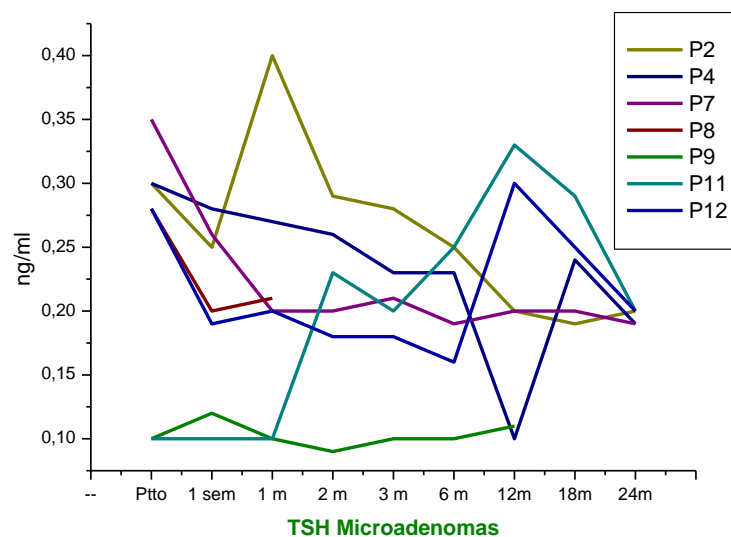
De los 12 perros 11 mostraron valores dentro de los límites fisiológicos durante los 24 meses. Pasado este periodo se evaluó regularmente. Solo uno desarrolló hipotiroidismo hipofisario (P1) a los 6 meses del tratamiento, situándose sus valores entre  $0,09$  y  $0,1 \text{ ng/ml}$ .

Si estos valores los expresamos en los dos grupos, en los microadenomas los valores medios pretratamiento fueron de  $0,24 \pm 0,1 \text{ ng/ml}$ , con variación entre un mínimo de  $0,1 \text{ ng/ml}$  y un máximo de  $0,35 \text{ ng/ml}$  ( $n=7$ ).

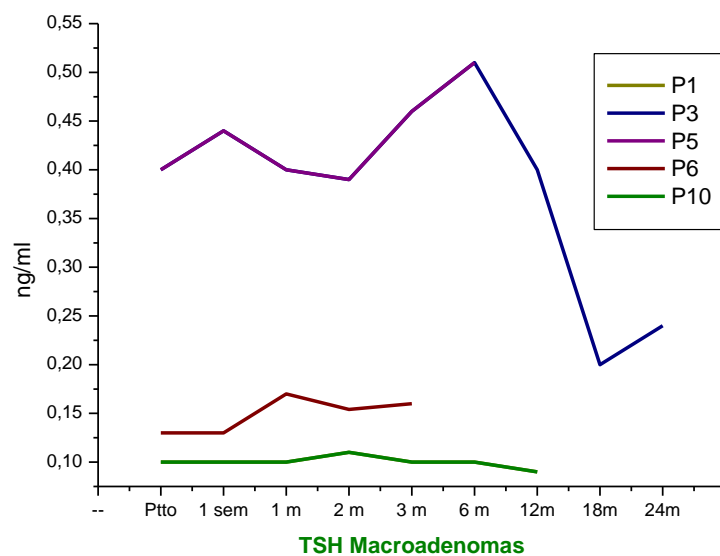
A los 3 meses tras el tratamiento ( $n=6$ ), el valor medio se situó en  $1,18 \pm 0,15 \text{ ng/ml}$  ( $0,1-0,23 \text{ ng/ml}$ ). A los 12 meses este valor medio para  $n=5$  era de  $0,21 \pm 0,11 \text{ ng/ml}$  ( $0,19 - 0,25 \text{ ng/ml}$ ). A los 24 meses, para  $n=5$ , los niveles medios fueron de  $0,20 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$  ( $0,19 - 0,2 \text{ ng/ml}$ ).

En los macroadenomas observamos una media pretratamiento de  $0,23 \pm 0,16 \text{ ng/ml}$ , con una variación entre un mínimo de  $0,01 \text{ ng/ml}$  y un máximo de  $0,4 \text{ ng/ml}$ , para  $n=5$ .

A los 3 meses del tratamiento la media fue de  $0,26 \pm 0,15 \text{ ng/ml}$ , en un rango de  $0,11 \text{ ng/ml}$  a  $0,39 \text{ ng/ml}$ , para  $n=5$ . A los 12 meses la media era de  $0,19 \pm 0,18 \text{ ng/ml}$  ( $0,09 - 0,4 \text{ ng/ml}$ ) para  $n=3$ . Y a los 24 meses P3 mostraba un valor de  $0,24 \text{ ng/ml}$ .



**Gráficas H11.** Representación de los valores plasmáticos de TSH a lo largo de las revisiones de los perros con microadenoma hipofisario situada superiormente.



**Gráficas H12.** Representación de los valores plasmáticos de TSH a lo largo de las revisiones de los perros con microadenoma hipofisario situada superiormente y macroadenomas en situación inferior.



### 7.7. SOMATOMEDINA C o IGF1

Los valores medios de los perros incluidos en este estudio previos al tratamiento fueron 161,96 ng/ml  $\pm$  0,72, en un rango de 31,0 ng/ml a 161,96 ng/ml. Los valores fisiológicos de referencia del laboratorio de biopatología para la somatomedina C se encuentran entre 200-698 ng/ml.

En el estudio estadístico el modelo de efectos mixtos lineal mostró una asociación estadísticamente significativa entre el tamaño del tumor y los niveles de IGF1 (chi-cuadrado = 4.5995, gl = 1, p = 0.03198), mostrando una mayor tendencia a disminuir en los perros con macroadenoma. Aunque esa tendencia a la reducción es general en todos los perros, en relación al tiempo transcurrido, tal como muestra la pendiente (-0.01207) calculada.

Los valores medios antes del tratamiento en el grupo de microadenomas se situaron en 198,29  $\pm$  71,24 ng/ml, con un mínimo de 128,4 ng/ml a un máximo de 320,0 ng/ml, para n=7.

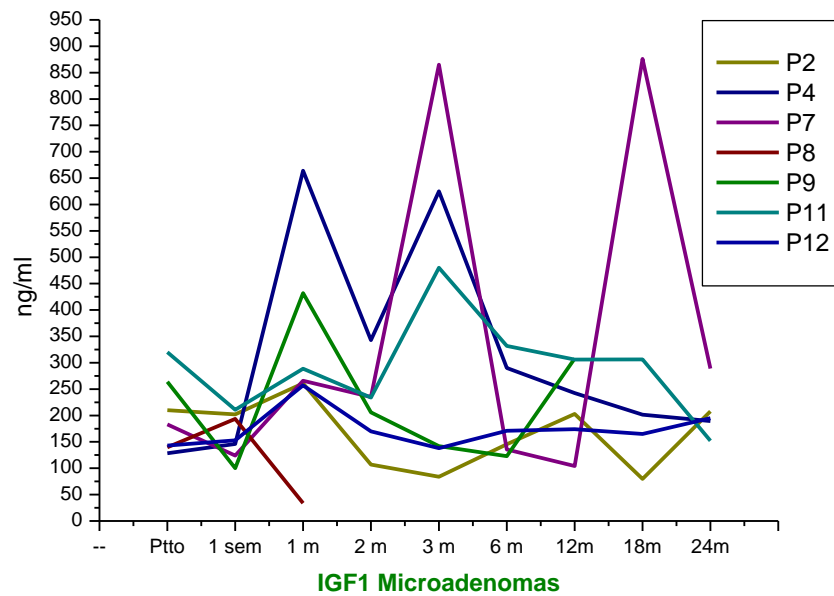
A los tres meses (n=6) la media mostraba un valor de 389,0  $\pm$  318,2 ng/ml, entre un rango de 84,0 y 865,0 ng/ml. A los 12 meses el valor medio fue de 222,98  $\pm$  79,23 ng/ml, con una variación entre 104,03 y 308,0 ng/ml, para n=5. A los 24 meses esos valores se mostraban en 152,0  $\pm$  50,5 ng/ml, en un intervalo de 152,0 y 289,0 ng/ml.

Los niveles medios antes del tratamiento, en los perros diagnosticados como macroadenoma, mostró un valor de 111,08  $\pm$  96,77 ng/ml, con un rango de 31,0 a 246,78 ng/ml, para n=5.

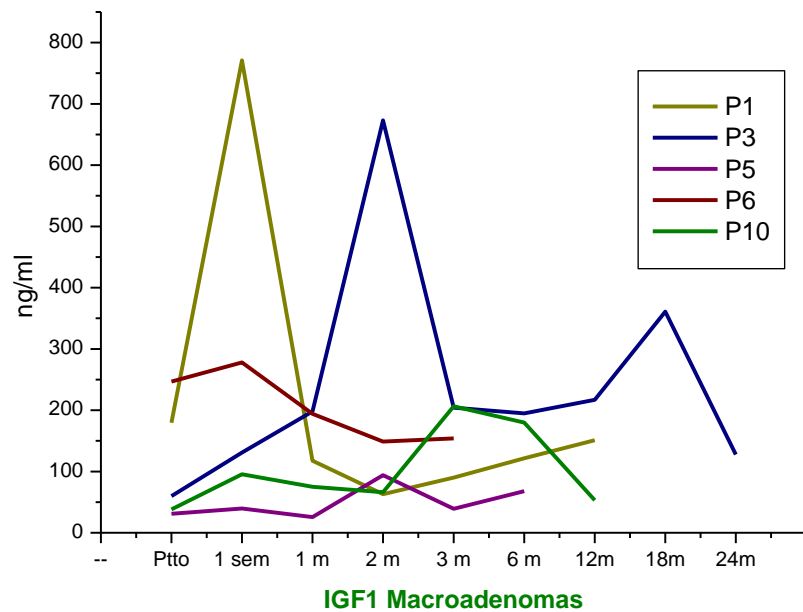
A los tres meses el valor se situó en 137,72  $\pm$  72,97 ng/ml, con una variación entre 39,0 y 206,5 ng/ml, para n=5. Al año el nivel medio (n=3) era de 140,35  $\pm$  82,49 ng/ml, con valores mínimo y máximo de 53,05 y 217,0 ng/ml respectivamente. A los 24 meses el valor del IGF1 para P3 fue de 127,8 ng/ml.

En general los valores de este grupo tienden a estar por debajo del límite de referencia. Sólo uno se encuentra dentro del rango de referencia antes del tratamiento (P6), pero con un valor muy cercano al límite inferior considerado fisiológico. Aunque las mayores variaciones temporales las muestran P1 y P3, tal como puede observarse en la gráfica H14.

En ambos grupos hay una gran variabilidad de los niveles de esta hormona, correlacionable con los niveles de la hormona de crecimiento o GH, aunque esta hormona también tiene una correlación positiva con los niveles de insulina lo que se ha de tener en cuenta.



**Gráfica H13.** Representación de los valores plasmáticos de Somatomedina C a lo largo de las revisiones de los perros con microadenomas hipofisarios.



**Gráficas H14.** Representación de los valores plasmáticos de Somatomedina C a lo largo de las revisiones de los perros con macroadenoma hipofisario.

#### 7.6. CORTISOL PRE Y POSTESTIMULACIÓN CON ACTH

Los valores medios del cortisol basal de los perros incluidos en este estudio previos al tratamiento fueron  $3,92 \pm 1,83$  mcg/ml, en un rango de 0,7 mcg/ml a 5,92 mcg/ml. Los valores de referencia para esta hormona del laboratorio de Biopatología 2-6 mcg/ml.

En este caso los valores de cortisol basal no mostraron una relación estadísticamente significativa ni con el paso del tiempo ni con el tamaño tumoral.

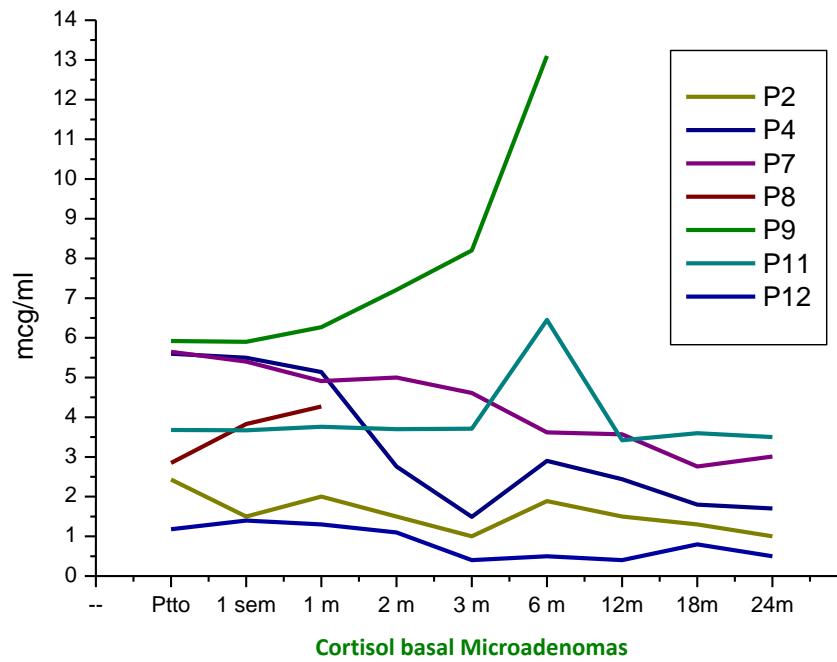
Los microadenomas mostraron un valor de cortisol basal previo al tratamiento de  $3,90 \pm 1,86$  mcg/ml, en un rango de 1,18 a 5,92 mcg/ml, para n=7.

A los tres meses este valor se situaba en  $3,24 \pm 2,93$  mcg/ml, en un intervalo de 0,4 a 8,2 mcg/ml para n=6. A los 12 meses la media era de  $2,27 \pm 2,93$  ng/ml, situándose entre un mínimo y un máximo de 0,4 y 3,57 mcg/ml respectivamente, para n=5. A los 2 años, para n=5, los niveles se encontraban en una media de  $1,94 \pm 1,18$  mcg/ml, con una variación entre 0,5-3,5 mcg/ml.

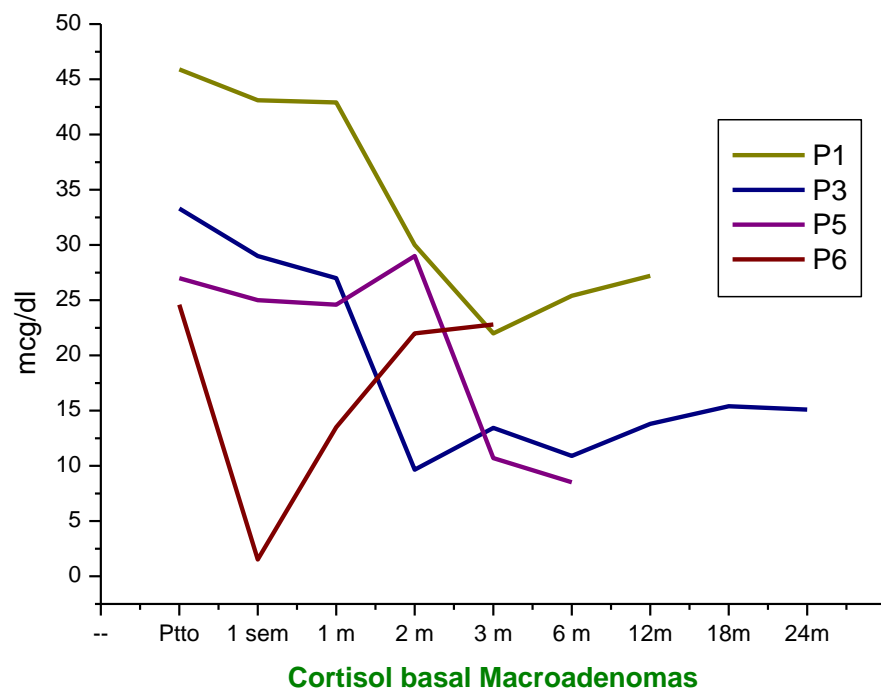
El único paciente que se sale en la gráfica de la tendencia general es P9 que muestra una elevación mantenida de sus niveles de cortisol basal a partir del tercer mes, tal y como se puede observar en la gráfica H15.

En el grupo de macroadenomas estos niveles antes del tratamiento mostraban un valor de  $3,93 \pm 2$  mcg/ml, variando entre 0,7 y 5,73 mcg/ml, para n=5.

A los tres meses se situaban en  $2,85 \pm 1,61$ mcg/ml, entre 1 y 4,33 mcg/ml. (n=5). A los 12 meses exhibían una media de  $4,03 \pm 2,85$  mcg/ml, situándose entre un mínimo y máximo de 0,8 y 6,18 mcg/ml, para n=3. A los 24 meses P3 tenía el valor más alto de todo el periodo con 13,1 mcg/ml.



**Gráficas H15.** Representación de los valores plasmáticos de cortisol basal en los perros con microadenoma hipofisario.



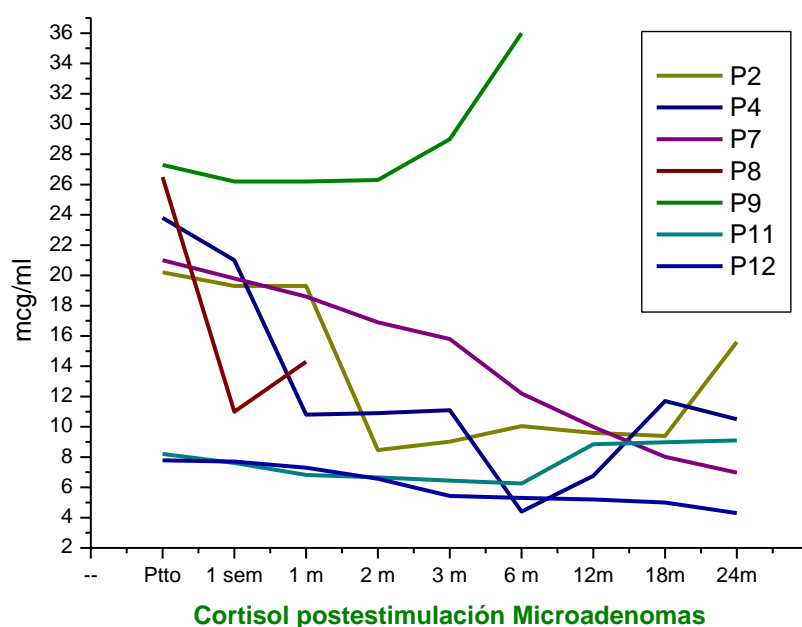
**Gráficas H16.** Representación de los valores plasmáticos de cortisol basal en los perros con macroadenoma hipofisario.

Los valores de cortisol postestimulación se han ido refiriendo a lo largo de la evolución sintomatológica de los animales, ya que sirve como medida para evaluar la capacidad de respuesta hormonal.

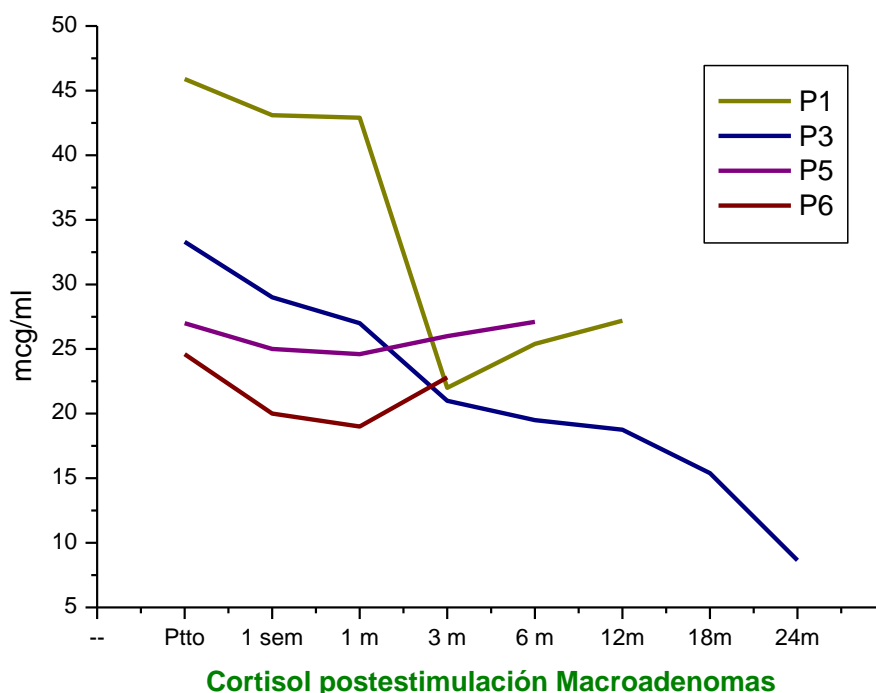
Los valores medios previos al tratamiento del grupo de los microadenomas fueron  $29,28 \pm 9,98$  mcg/ml, en un intervalo con un mínimo de 24,6 mcg/ml y un máximo de 45,9 mcg/ml, para  $n=4$  (se excluye el perro con hipoadrenocorticismio).

A los 3 meses este valor medio ( $n=4$ ) se encontraba en  $24,0 \pm 3,99$  mcg/ml (21- 22,8 mg/ml). A los 12 meses los valores eran 18,75 mcg/ml (P3) y 27,2 mcg/ml (P1). A los 24 meses P3 mostraba unos niveles de 8,65 mcg/ml.

En los valores del cortisol tras la estimulación, el modelo estadístico mostró una asociación estadísticamente significativa entre el tiempo transcurrido desde el tratamiento y los niveles de cortisol postestimulación ( $\chi^2 = 3.3381$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.0009668$ ). Su evolución muestra una tendencia a la baja con una pendiente de la función calculada  $= -0.01173$ . No obstante, no se apreció una relación estadísticamente significativa entre el tamaño del tumor y la evolución de esta hormona.



**Gráficas H17.** Representación de los valores plasmáticos de cortisol postestimulación con ACTH en los perros con microadenoma hipofisario.



**Gráficas H18.** Representación de los valores plasmáticos de cortisol postestimulación con ACTH en los perros con macroadenoma hipofisario

## 8. HALLAZGOS DE NECROPSIA

En cuatro de los perros con macroadenoma se hizo necropsia. En la tabla 23 se describen los hallazgos macroscópicos e histológicos más relevantes. Adicionalmente a las lesiones descritas en la tabla, en todos los animales, se observaron lesiones seniles como nefritis intersticial crónica y dilatación de cámaras cardíacas con endocardiosis valvular de grado leve a moderado.

La **perra P3** se sacrificó 25 meses tras el tratamiento de radiocirugía. Macroscópicamente presentaba una masa hipofisaria con las siguientes medidas: DV 17 mm; AP 21 mm y LL 18 mm, y congestión meníngea. Las glándulas adrenales disminuidas de tamaño. En la base de la lengua presentaba una pequeña masa pigmentada y adherida a ligamento. Los riñones eran fibrosos, duros y con mala decapsulación.

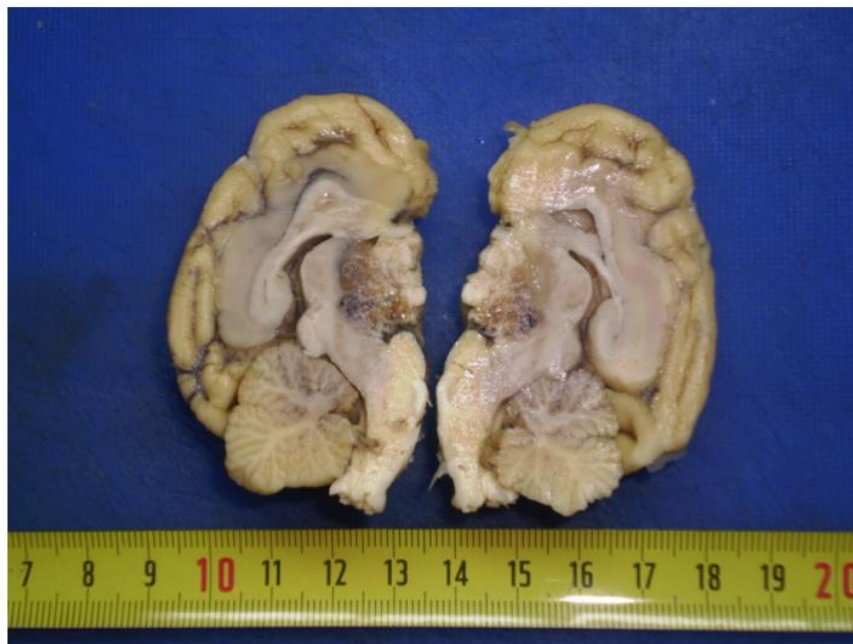
Histológicamente en la hipófisis cabe destacar la presencia de calcificaciones, fibrosis y necrosis con depósitos de cristales de colesterol, y la presencia de un adenoma de la parte intermedia. El cortex cerebral era normal, con un leve aumento de las células de la glía. El cerebelo presentaba gliosis. Otras estructuras nerviosas eran normales.

Respecto a las glándulas adrenales, la adrenal derecha histológicamente mostraba atrofia, con pérdida de la estructura de las 3 capas y engrosamiento de la cápsula con fibrosis de la zona cortical superficial, así como hialinización de arteriolas. En la adrenal derecha se observó

una sustitución fibrosa de la cortical extendiéndose desde la cápsula, provocando una marcada fibrosis en la cortical. Asimismo, se evidenciaron grupos de células con degeneración grasa o hialina, calcificación distrófica e hialinización de la pared arteriolar.

La lesión observada en la lengua presentaba una atrofia muscular con sustitución de fibras musculares por tejido adiposo, con una leve reacción inflamatoria y algún linfocito aislado.

En la piel se apreció hiperqueratosis en la epidermis y queratosis folicular con atrofia epidérmica. Se evidenció edema de la dermis superficial y displasia folicular con presencia de folículos displásicos aislados.



**Figura R9:** Cerebro de P3 con la masa hipofisaria ( DV 17 mm; AP 21 mm y LL 18 mm).

La **paciente P5** había sido sometida al tratamiento 6 meses antes. Macroscópicamente se observó la existencia de un tumor hipofisario con unas medidas de 11 mm en su diámetro DV, 11 mm AP y 11,5 LL. Había Leve congestión meníngea. Las glándulas adrenales presentaban un aumento de tamaño bilateral y la adrenal izquierda un nódulo cortical. El hígado estaba disminuido de tamaño. En el intestino los hallazgos eran compatibles con enteritis crónica. Los riñones se decapsularon mal.

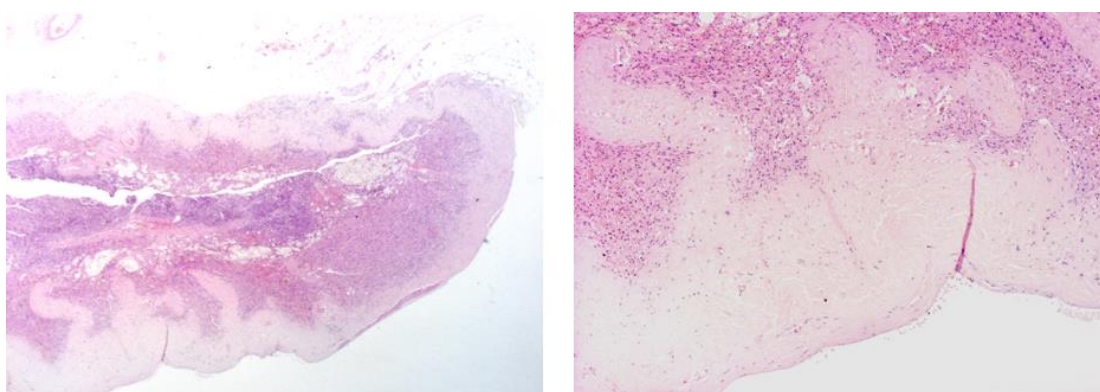
Histológicamente destacó la presencia de un carcinoma cromófobo de la *pars distalis* con zonas de fibrosis e hialinosis. En las glándulas adrenales se apreció hiperplasia difusa y nodular de la corteza adrenal.

El **perro P6** había sido tratado 5 meses antes con Gamma knife. En el estudio macroscópico existía de un tumor hipofisario, el hígado disminuido de tamaño, los riñones congestivos que decapsulaban mal y las adrenales disminuidas de tamaño. El tamaño del tumor había aumentado, con unas medidas de 1,2 mm (LL) x 1,5 mm (DV) x 1,2 mm (AP).

Los hallazgos histológicos más relevantes fueron los siguientes: en la hipófisis se observó la presencia de un adenoma cromóforo de la *pars distalis* rodeado de fibrosis. A nivel del cortex cerebral se apreciaron cambios degenerativos leves. No se observaron otros hallazgos en las estructuras cerebrales próximas a la hipófisis. Mostraba nefritis intersticial crónica severa y hepatopatía esteroidea marcada. Las adrenales evidenciaban una atrofia con fibrosis de la cápsula e hipertrofia de la zona fascicular con hialinosis arteriolar.

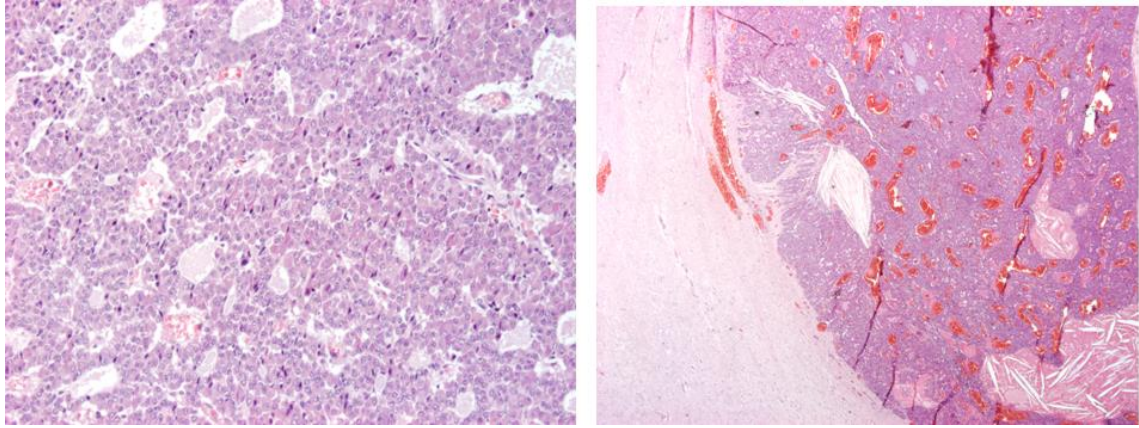
El **perro P10** había recibido el tratamiento 11 meses antes. Macroscópicamente existía una masa en la extremidad posterior derecha. La hipófisis tenía un tamaño de 9 AP x 8 LL y 9 DV mm respectivamente. Las estructuras cerebrales fueron normales. Se observó un quiste dorsal a vejiga de la orina de 8 cm de diámetro. Los riñones decapsulaban con dificultad y se observaron infartos antiguos en ambos apreciándose en el derecho una cortical más delgada. Las adrenales estaban disminuidas de tamaño.

Histológicamente existía un adenoma de la parte intermedia con depósito de sustancia hialina. Atrofia de las glándulas adrenales con fibrosis de la zona fascicular.

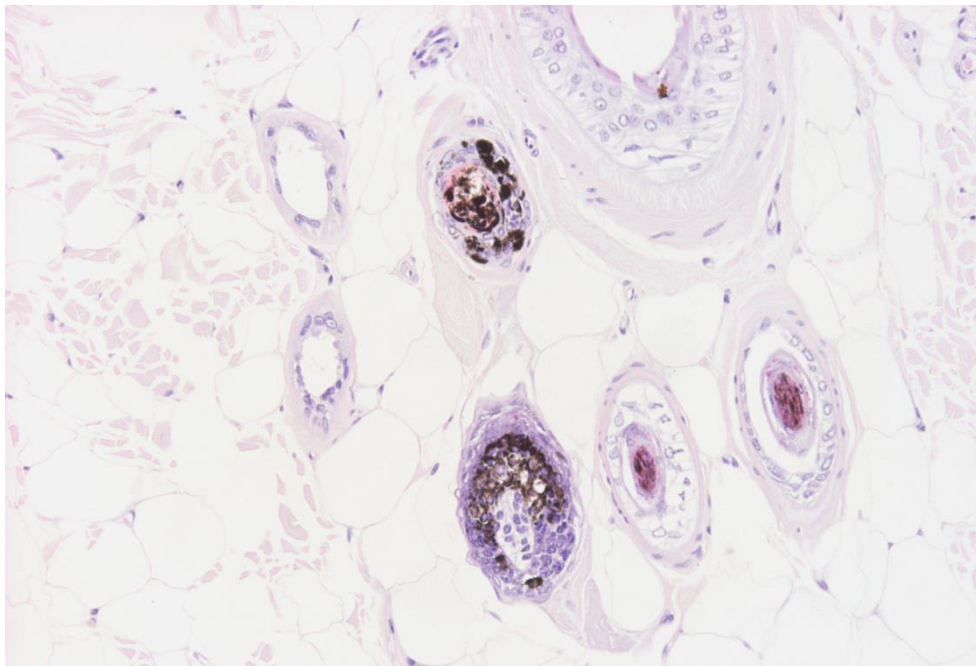


**Figura R10.** Adrenal izquierda teñida con HE. A la izquierda x1,25. Derecha x4. Fibrosis cortical y atrofia glandular.

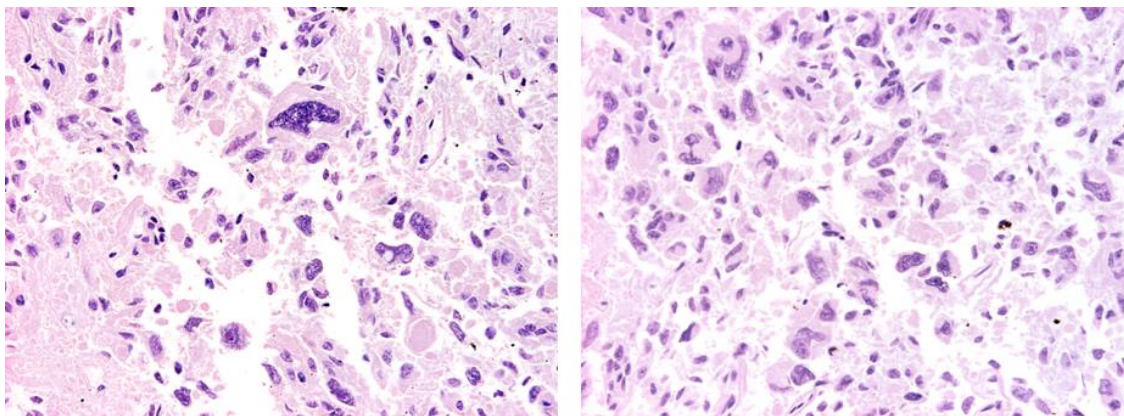




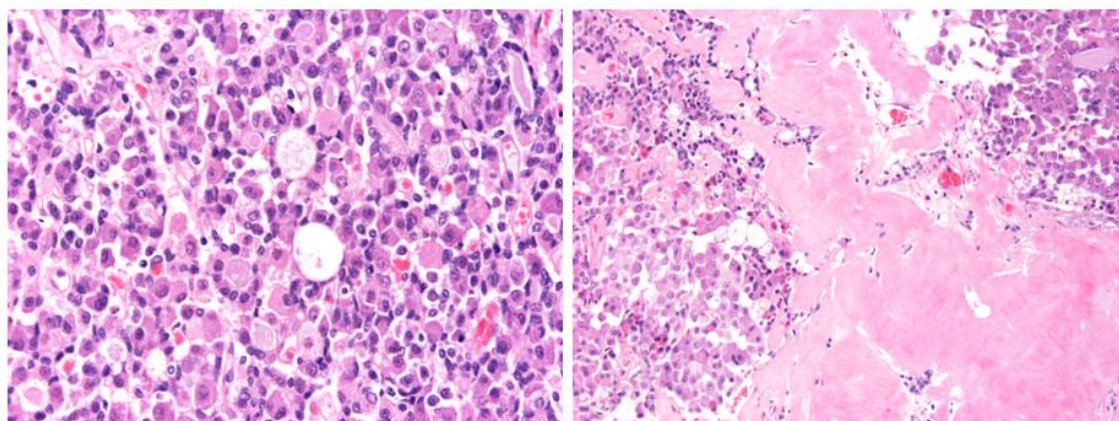
**Figura R 11:** P3. Izquierda tinción HE, x10. Adenoma de la parte intermedia. Derecha HE, x1,25, tumor presionando diencéfalo.



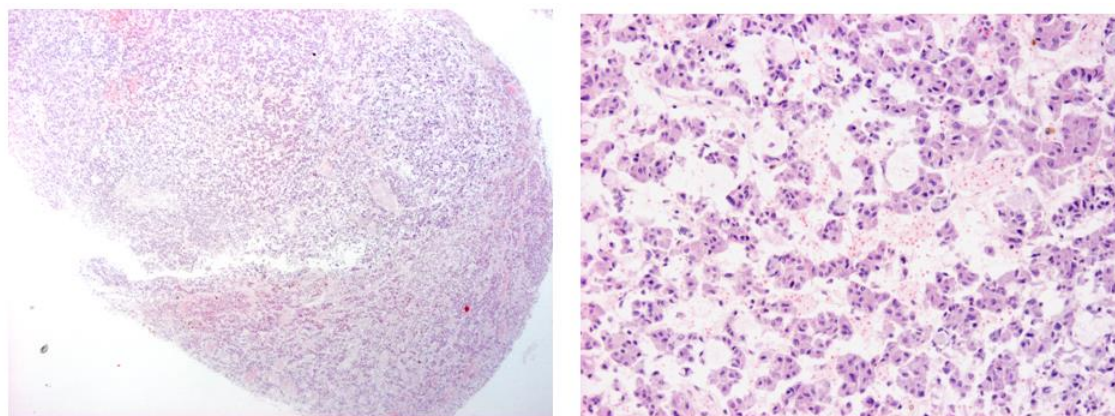
**Figura R12:** P3. HE, x 10. Displasia folicular. Presencia de gránulos de melanina formando aglomerados con una distribución heterogénea.



**Figura R 13:** Perra P5. Adenocarcinoma. Tinción HE. Izquierda x 40, derecha x20.



**Figura R 14:** Adenoma de la pars intermedia de P10.. Izquierda HE x 20. Derecha HE x 10. Depósitos de hialina (radionecrosis tumoral).



**Figura R215:** P6. Adenoma del lóbulo anterior hipofisario. Izquierda HE x 1,25. Derecha HE x10.



Paciente	Hallazgos macroscópicos	Hallazgos histológicos
P3	Neoplasia hipofisaria 17 x 21 x 18 mm (DV-AP-LL)	Adenoma de la <i>pars intermedia</i> hipofisaria con fibrosis, necrosis y cristales de colesterol
	Adrenales disminuidas de tamaño	Engrosamiento de la cápsula de la glándulas adrenales con fibrosis moderada y atrofia
	Engrosamiento sublingual	Degeneración muscular en la base de la lengua
P5	Masa hipofisaria 11 x 11x10,5 mm (DV-AP-LL)	Carcinoma cromóforo de la AH
	Aumento de tamaño adrenal	Hiperplasia difusa y nodular adrenal
P6	Tumor hipofisario	Adenoma <i>pars distalis</i>
	Adrenales disminuidas de tamaño	Atrofia de glándulas adrenales con engrosamiento cápsula y fibrosis de la zona fascicular. Hialinosis arteriolar
	Lesión renal crónica	Nefritis intersticial severa
	Hígado disminuido de tamaño	Hepatopatía esteroidea
P10	Tumor hipofisario 9 x9 x8 mm (DV-AP-LL)	Adenoma de la <i>pars intermedia</i>
	Adrenales disminuidas de tamaño	Atrofia adrenal

TABLA 24. Hallazgos más relevantes en las necropsias.

## Discusión

---



## V. DISCUSIÓN

El hiperadrenocorticismo canino es una endocrinopatía frecuente en perros de edad media avanzada. Es de curso lento y progresivo, dando lugar a un cuadro clínico multisistémico que ocasiona una mala calidad de vida. En el 85% de los perros con HAC el origen de la enfermedad es una lesión hipofisaria, normalmente un adenoma. Sin un tratamiento adecuado de la enfermedad los animales mueren o deben ser sacrificados. La terapia más utilizada es el tratamiento médico, que reduce los niveles de cortisol circulantes y permite controlar el cuadro clínico. Sin embargo, en perros con HAC hipofisario, el tratamiento definitivo se consigue mediante hipofisectomía o radioterapia hipofisaria, procedimientos poco habituales en medicina veterinaria. El tratamiento sobre la hipófisis, quirúrgico o de radioterapia, es especialmente importante en aquellos perros con HAC en los que la lesión hipofisaria alcanza un tamaño superior a 10 mm, denominados en la literatura macroadenomas. En estos casos suele haber sintomatología neurológica central, el pronóstico es grave y la supervivencia está reducida al compararla con perros que presentan lesiones hipofisarias menores de 10 mm (microadenomas).

En el presente trabajo se han incluido 13 perros diagnosticados de HAC hipofisario en los que se realizó un estudio craneal con resonancia de alto campo (3 teslas), que permitió definir el tamaño de la lesión hipofisaria y clasificar a los animales en función de la misma en perros con microadenomas y con macroadenomas.

En relación a los hallazgos observados en **Resonancia Magnética** ocho animales presentaban lesiones hipofisarias clasificadas como microadenomas y cinco como macroadenomas.

De forma similar a lo descrito en la literatura veterinaria (Graham y col. 1999; Kippenes y col. 2000) y en el 63-100% de las hipófisis humanas (Brooks y col. 1989), las imágenes obtenidas mediante RM de la glándula hipofisaria mostraban una región hipertintensa en las imágenes potenciadas en T1, previas a la inyección del contraste, correspondiente a la neurohipófisis, incluida dentro de una hipófisis redondeada. El origen de esta señal es controvertido y se ha atribuido a grasa extraselar e intraselar, a lípidos incluidos en los pituitocitos, o al efecto paramagnético de los fosfolípidos o de los gránulos neurosecretores que contienen vasopresina en el lóbulo posterior (Maghnine y col. 1997, siendo esto último lo más probable como responsable de la hiperseñal observada en T1 (Bonneville y col. 2006). De manera inmediata tras la administración por vía intravenosa de contraste se observó un realce homogéneo de la glándula

pituitaria, al igual que ocurre en la TC con los contrastes yodados, tanto en la especie canina como en la humana. (Kippenes y col. 2001; Van der Vlugt y col. 2002; Graham y col. 2000).

En los 8 casos diagnosticados como **microadenomas** no se apreció la existencia de lesiones hipofisarias, incluido el estudio dinámico, ya que no hubo variaciones en la intensidad de señal en cuanto a la captación de contraste, posiblemente debido a que su tamaño era menor de 2 mm, que corresponde al límite de detección del equipo. El valor medio de la altura de la glándula y su desviación estándar ( $M \pm DE$ ) en estos animales fue de  $4,6 \pm 1,6$  mm, con un rango de 3,5 a 7,2 mm, que concuerda con las cifras obtenidas por otros autores en perros sanos, como los 5 a 6 mm (Graham y col. 2000), 3-7,5 mm ( $5,1 \pm 0,7$  mm) (Kippenes y col. 2001), y los 2 a 5,4 mm (media de 5 mm) (Kooistra y col. 1997). Coincidiendo con esos mismos autores no se observaron grandes variaciones en la altura de la hipófisis, a pesar de las diferencias de tamaño corporal y del peso de los pacientes del estudio (sólo 2 casos en este grupo tenían un peso superior a los 20kg).

La ausencia de imágenes compatibles con microadenoma no excluye su diagnóstico, ya que aproximadamente, según algunos autores, en solo un 40% de los casos éstos no son detectables por los estudios de imagen (Kippenes y col. 2000). Otras publicaciones indican que los microadenomas necesitan para su diagnóstico de la realización de estudios histológicos sobre el tejido extraído en una cirugía o de una necropsia (Kippermann y col.1992).

Por otro lado, las medidas de la anchura (diámetro laterolateral) y de longitud (diámetro anteroposterior), obtenidas en los planos coronales y sagitales respectivamente, fueron de  $5,5 \pm 2,2$  mm, con un rango de 3,6 a 9,8 mm; y de  $5 \pm 1,8$  mm, con un intervalo de 3,0 a 8,8 mm; dimensiones muy semejantes a los 2,4 a 7,0 mm (media 5,0 mm) y de 2,0 a 6,0 (media 4,0 mm) referidas por Kooistra y sus colaboradores en perros sanos (1997).

Sólo dos de los 8 perros con microadenomas mostraban una discreta extensión supraselar, por lo que se podría afirmar que en estos casos la hipófisis estaba aumentada de tamaño dorsalmente. En uno de ellos se corresponde con la medida máxima obtenida en este grupo, 7,2 mm. Este hallazgo sugiere que, en pequeños animales, se debería modificar el límite de altura que define la presencia de macroadenoma y considerar como tales a todas las hipófisis que evidencien una extensión supraselar, tal y como apuntan Kippenes y sus colaboradores (2001), o bien adoptar el índice P/B propuesto por Kooistra y sus colaboradores (1997).

Cinco de los 13 perros estudiados presentaban una altura hipofisaria superior a 10 mm, por lo que fueron clasificados como **macroadenomas**. En estos casos la neoplasia era

perfectamente visible debido a su tamaño en todos los planos y secuencias del estudio, tanto en las potenciadas en T1 pre-contraste como en las T2. La morfología de las lesiones era variada, redondeadas (n=3), lobulada (n=1) e irregular (n=1). Uno de los casos además evidenciaba un sangrado intratumoral. Duesberg y colaboradores (1995) indican que no es necesario el empleo de estudios con contraste para el diagnóstico de los macroadenomas con las técnicas de imagen. No obstante, el uso de contraste aporta más precisión diagnóstica, aumentando la sensibilidad para diferenciar el tumor de las estructuras anatómicas adyacentes, ya que generalmente las neoplasias son ligeramente hipointensas al compararlas con el tejido hipofisario normal que rápidamente adquiere acusado realce tras la administración de contraste (Zhu y col. 1999), siendo de gran relevancia a la hora de planificar las hipofisectomías y los tratamientos radioterápicos o de radiocirugía.

En dos perros con macroadenomas se apreció dilatación del sistema ventricular, sugerente de posible hidrocefalia, y que se correspondía con los animales que presentaban las neoplasias de mayor tamaño, existiendo en uno de ellos una clara compresión sobre el tercer ventrículo. El otro animal presentaba un tumor ligeramente más pequeño y carecía del *septum pellucidum*, variante anatómica que puede acompañarse de hidrocefalia (Kii y col. 1998). Señalar que en ambos casos se apreciaron signos clínicos neurológicos centrales (aletargamiento, llanto, disminución de la consciencia y falta de reactividad) que sugerían un incremento de la presión intracraneal, por lo que se consideró la existencia de hidrocefalia.

Con respecto a las medidas del índice P/B, referido como la altura de la hipófisis en relación al área cerebral obtenida en el mismo corte axial, definido por Kooistra y colaboradores en 1997, en todos los macroadenomas de este estudio dicho índice fue  $\geq 0,31 \times 10^{-2}$ . Sin embargo, este índice fue también  $> 0,31 \times 10^{-2}$  en 3 casos diagnosticados como microadenomas, siendo el índice P/B en ellos de  $0,37 \times 10^{-2}$ ,  $0,41 \times 10^{-2}$  y  $0,43 \times 10^{-2}$ , respectivamente. De estos tres microadenomas (según la clasificación clásica), dos mostraban una discreta extensión supraselar, lo que sugiere que el índice P/B muestra mayor sensibilidad que el criterio de clasificación clásico aceptado e importado de la medicina humana, incluso se encuentra incluido como válido en el consenso de diagnóstico del HAC (Behrend y col. 2013), sin embargo, no es ampliamente empleado. De hecho, sería deseable establecer un consenso diagnóstico para neoplasias hipofisarias en pequeños animales que definiera un criterio más preciso que permita diferenciar mediante los procedimientos de imagen los macroadenomas de los microadenomas, teniendo en cuenta si existe o no extensión supraselar o tomando como rutinario el índice P/B, o una



combinación de ambos, ya que se ha demostrado que el índice P/B presenta cierto grado de solapamiento entre ambos tipos de tumor (Taoda y col. 2011).

Las imágenes obtenidas mediante RM en todos los casos, tanto en microadenomas como en macroadenomas, y a pesar de que la antena empleada era más amplia de lo óptimo deseable para el tamaño de cabeza de los animales de este estudio, mostraron una gran resolución para distinguir los tejidos circundantes a la hipófisis, incluso en los perros más pequeños. La localización de estos tejidos, especialmente las vías ópticas, resulta imprescindible para efectuar una adecuada planificación del tratamiento radioterápico. No obstante, con el empleo de una antena más adecuada al tamaño de cada paciente, la resolución del equipo mejoraría sustancialmente.

Tanto en medicina humana como en veterinaria, para el diagnóstico de las lesiones hipofisarias se pueden utilizar la RM o la TC. La TC es un buen método diagnóstico de los adenomas hipofisarios (Van der vlugt y col. 2002), sin embargo, la RM es igualmente eficiente pero mucho más resolutive a la hora de poder evaluar el estado de los tejidos circundantes, ya que ofrece una resolución anatómica excelente y un mejor contraste de los tejidos blandos, permitiendo una buena delimitación de los tumores y una mejor valoración de la región supraselar, de los ventrículos laterales y de los senos cavernosos, careciendo por otro lado de los artefactos que produce el grueso cráneo canino en los estudios mediante TC (Duesberg y col. 1995; Taoda et al 2011; Schwarz y Saunders, 2011). Las desventajas de la RM son la menor disponibilidad de equipos con especial dedicación a pacientes veterinarios, el coste, el tiempo de anestesia necesario para la realización de la exploración y la necesidad de equipos anestésicos especialmente diseñados para ser empleados en el interior de la sala de RM.

Tanto la TC como la RM muestran una gran sensibilidad para el diagnóstico de los macroadenomas. Con respecto a los microadenomas, según la literatura, en casi la mitad de los perros con estas neoplasias las técnicas de imagen no consiguen su visualización. En este estudio, ningún microadenoma pudo ser identificado, quedando el diagnóstico en manos de las pruebas de estimulación hormonal, en combinación con la historia y exploración clínicas y los análisis sanguíneos y urinarios, que hasta ahora han sido bastante fiables en el diagnóstico etiológico de la enfermedad. Sin embargo no sería desdeñable introducir como exploraciones rutinarias en el protocolo diagnóstico la obtención de un TC o una RM con la idea de conseguir diagnosticar los macroadenomas antes de que lleguen a desarrollar sintomatología neurológica. Teniendo en cuenta que no todos los perros con macroadenoma presentan sintomatología neurológica, en

nuestro estudio 3 de cinco casos, al igual que han observado otros autores (Wood y col 2007), el estudio por imagen con RM o TC sería recomendable en todos los perros diagnosticados de HACH.

Este es el primer trabajo que describe la eficacia y toxicidad del procedimiento de **Radiocirugía con Gamma knife** para el tratamiento de perros con hiperadrenocorticismismo, en una serie de casos con HAC de origen hipofisario. La terapia indicada del HACH canino es el tratamiento etiológico, o dicho de otro modo aquel medio terapéutico encaminado a eliminar la lesión hipofisaria. Esto puede llevarse a cabo mediante hipofisectomía transesfenoidal, método quirúrgico que elimina todo o la mayor parte del tejido neoplásico, pero que requiere un alto entrenamiento del equipo que lo realiza ya que el abordaje es a través de la base craneal e implica una alta habilidad técnica y experiencia. El otro método de probada eficacia es la radioterapia, que aunque no elimina el tejido neoplásico tiene por principal objetivo inicialmente conseguir detener el crecimiento de la masa y a largo plazo la reducción del tamaño tumoral, lo que en condiciones ideales permitiría el control de los niveles hormonales. La disminución del volumen tumoral es de vital importancia para evitar el efecto masa que provocan los macroadenomas sobre el diencefalo y las estructuras adyacentes, limitando así la sintomatología neurológica asociada.

En humanos el tratamiento indicado de los adenomas corticotropos se realiza mediante hipofisectomía y en casos de recidivas se recurre a la radioterapia y la RCGK. Esta última consigue el bloqueo del crecimiento tumoral (Ganz 2012; Choi y col. 2003,) aunque el control de los niveles hormonales puede tardar hasta unos 5 años (Choi y col. 2003), con intervalos según los autores de entre unos 2 meses e incluso los 8 años (Martínez y col. 1998; Jagannathan y col. 2009). Las dosis administradas en estos casos varían entre los 23 Gy (Jagannathan y col. 2009) y los 29,5 Gy (Castinetti y col. 2010), consiguiendo unas tasas de remisión del 50% entre los 12 y los 60 meses, con recurrencias del 2 al 10%, siendo en muchos casos necesario administrar un tratamiento farmacológico adyuvante hasta alcanzar la remisión (Castinetti y col. 2010). El efecto menos deseable de esta terapia a largo plazo es el hipopituitarismo, observado en aproximadamente en un 20-40% de los casos (Castinetti y col. 2009).

En veterinaria se describió por primera vez la hipofisectomía transesfenoidal en los años 60 (Rijnberk y col. 1964). Desde entonces y hasta la actualidad, algunos centros destacan por su gran experiencia, como el grupo de Meij y colaboradores de la Universidad de Utrecht en Holanda (Hanson y col. 2007), el de Bruyette y colaboradores en Los Ángeles, EEUU, utilizando este último microcirugía guiada por videotelescopio de alta definición desarrollado específicamente para su empleo en pequeños animales (Mamelak y col. 2014), y otro grupo en la Universidad de Tokio en

Japón (Ishino y col. 2009). Es una técnica que requiere un alto entrenamiento debido a la dificultad de acceso y las estructuras adyacentes al tejido glandular. Asimismo, la extirpación de la totalidad del tejido neoplásico es difícil, sobre todo en aquellos de mayor tamaño, por lo que suelen quedar nidos de células corticotropas tras la cirugía (Meij y col. 2002; Axlund y col. 2005). La persistencia de restos tumorales puede hacer que los animales mantengan cierto eucortisolismo posterior a la cirugía, si bien puede ser la causa de la recidiva neoplásica y de la recurrencia de la enfermedad (Moore y O'Brien 2008). La cirugía es un procedimiento costoso, no solo por el material técnico necesario para llevarla a cabo sino también por el tiempo necesario de hospitalización, que puede oscilar entre 4 a 25 días (Hara y col. 2002). Durante ese periodo el paciente necesita cuidados intensivos, tratamiento hormonal sustitutivo con ADH, cortisona y tiroxina, además de valoración analítica de los niveles hormonales y de los electrolitos hasta su estabilización (Hara y col. 2002; Meij y col. 2002). A parte del coste, no asumible por todos los propietarios, otra de las desventajas del procedimiento es su mortalidad, si bien ésta ha ido reduciéndose con el tiempo, desde un 9,3% en los primeros estudios hasta un 2,7% en los más recientes, posiblemente debido al mejor manejo postoperatorio de los animales (Hanson y col. 2005). La tasa de mortalidad referida actualmente en el perro es similar a la descrita en humanos empleando el mismo procedimiento quirúrgico, situándose entre el 1 y 4% (Bochicchio y col. 1995; Rees y col. 2002).

Una alternativa a la hipofisectomía es la radioterapia, recomendada sobre todo para tratar macrotumores (Goossens y col. 1998) o en aquellos pacientes en los que el control del HAC es deficiente mediante el tratamiento médico o que presenten sintomatología neurológica (Mauldin y Burk 1990). El principal objetivo de la radioterapia es reducir la progresión del crecimiento neoplásico a corto-medio plazo y conseguir a largo plazo una reducción del tamaño tumoral, que en varios estudios se ha encontrado próxima al 100% de los casos, en un plazo de aproximadamente de 11 a 12 meses (Dow y col. 1990; Bley y col. 2005), con el fin, sobre todo en los perros con macroadenoma, de conseguir un mejor control de la sintomatología neurológica (Theon y Feldman 1998). Existen distintas técnicas para realizarla, como se expuso en la revisión bibliográfica, pero casi todas tienen en común el fraccionamiento de la dosis en varias sesiones. Las dosis empleadas en los distintos estudios varían según el protocolo utilizado: 36 a 63 Gy fraccionada en dosis de 3 Gy aplicadas en unas 12 sesiones, realizadas en días alternos en una unidad de  $^{60}\text{Co}$  de teleterapia (de Fornel y col. 2007); 44 Gy en 11 fracciones de 4Gy durante 3 semanas y media, tres días en semana en una unidad de teleterapia  $^{60}\text{Co}$  con fuentes paralelas de igual intensidad (Goossens y col. 1998); o 48 Gy con fraccionamiento de 3Gy, aplicados de lunes a viernes hasta completar la dosis total, en un acelerador lineal de 4MV (Kent y col. 2007; Theon y

Feldman, 1998). En otros estudios, el régimen hipofraccionado de radioterapia se realiza con rayos X de 4MeV, hasta obtener una dosis total de 38 Gy en 5 dosis escaladas (5, 7, 8, 9 y 9Gy) administrados una vez a la semana (Brearly y col. 1999). Para cada una de las sesiones, en todas las modalidades, se requiere mantener anestesiado al paciente, que sus propietarios le lleven al centro para administrar cada dosis, o bien que permanezca ingresado durante todo el tratamiento, lo que conduce al encarecimiento del procedimiento y en ocasiones a su abandono. En la literatura se ha referido el fallecimiento de algunos animales durante el tratamiento con radioterapia, aunque se desconoce la tasa de mortalidad y sus causas, ya que en los estudios no hay un seguimiento adecuado de los animales (Kent y col. 2007).

La principal ventaja de la hipofisectomía en perros con HACH frente a la radioterapia es que extrae el tejido tumoral, lo que conduce a un control hormonal y de la sintomatología casi inmediata tras la cirugía, con un índice de remisiones similar a los que se alcanza en humanos (Hanson y col. 2005). La tasa de remisiones ronda el 65% y el porcentaje de recurrencias el 25% (Hanson y col. 2005). La eficacia es mayor y con menos recurrencias en los perros con microadenomas, comparativamente con aquellos que padecen macroadenomas, lo que se traduce en una menor supervivencia y una mayor tasa de recaída en estos últimos (Hanson y col. 2005). Ishino y colaboradores (2009) consideran que los mejores candidatos para este procedimiento son los perros con un tumor hipofisario menor de 12 mm, presentando los de mayor tamaño una mayor tasa de recaída y siendo la cirugía en esos casos sólo un tratamiento paliativo. Se ha observado que las recaídas suceden entre los 5 a 47 meses tras la cirugía (Meij y col. 2002).

El método empleado en este estudio fue la radiocirugía (RC) estereotáctica con Gamma Knife (RCGK), especialmente diseñada para realizar este tratamiento en la cabeza, y que consiste en aplicar una única dosis de irradiación sobre un objetivo definido previamente de manera muy precisa, manteniendo los tejidos adyacentes con una mínima incidencia de radiación. Las dosis que se administraron a nuestros pacientes se situaron entre 25 y 35 Gy, con una media de  $30 \pm 2,89$  Gy, distribuida a través de 192 haces confluentes en la zona de isodosis con un 70 a 80% de cobertura, variable en función del tamaño tumoral. Las dosis empleadas fueron sensiblemente superiores a las que se aplican en humanos, 23 Gy (Jagannathan y col. 2009), 25 Gy (Martínez y col. 1998) y 29,5 Gy (Castinetti y col. 2010), considerando que en las personas que padecen esta patología es un tratamiento sobre una hipófisis operada previamente. Una técnica similar se utiliza en el Hospital Clínico Veterinario de Gainesville, Florida, en el que se emplea radiocirugía estereotáctica con un equipo LINAC de 6 MV, sin necesidad de marco estereotáctico, ya que la

máquina incorpora movimiento robotizado de la estructura de soporte para impedir que el portal de entrada de la irradiación se mantenga en la misma zona, disminuyendo así la dosis que reciben los tejidos sanos. Este grupo utiliza una dosis de 12-25 Gy, para distintos tipos de tumores intracraneales, con una media de 15 Gy, distribuidas a través de 5 a 21 haces (Mariani y col. 2015). La radiocirugía estereotáctica, y entre ellas la Gamma Knife, posee una gran ventaja sobre las distintas modalidades de radiación holocraneal, y es que los pacientes veterinarios solo tienen que ser sometidos a una anestesia disminuyendo así el riesgo de sus complicaciones. Por otro lado reduce el tiempo de hospitalización a 12 horas con el fin de evaluar la recuperación anestésica.

Respecto a la **eficacia del tratamiento con radiocirugía sobre el hiperadrenocorticismio**, los resultados del presente estudio son prometedores. Empleando RT convencional en perros con HAC los signos clínicos suelen remitir a las 4 semanas, aunque un 33% recurren entre los 6 y los 9 meses (Goosens y col. 1998), siendo necesario en algunos casos administrar tratamiento médico temporal o permanente. En el estudio de Kent y colaboradores (2007) en cuatro de 14 perros tratados se resolvió la sintomatología, seis no sufrieron cambios en el cuadro clínico y 2 murieron durante la terapia. No obstante, en otro estudio se comprobó que al año de recibir el tratamiento el volumen tumoral se redujo en todos los perros un 25% (Goosens y col. 1998).

Es difícil comparar nuestros resultados con los publicados previamente en medicina veterinaria empleando RC y RT, puesto que en algunos estudios no se diferencian los distintos tipos de neoplasias ni se evalúa por separado la evolución clínica de los animales en función del tamaño de los tumores (macro versus microadenomas), mostrando los datos de la supervivencia de los animales tratados en su conjunto. En el presente estudio se comprobó desde las primeras visitas del seguimiento clínico una clara diferencia en el control sintomático y en la evolución de los pacientes que tenían macroadenomas de los que tenían microadenomas, similarmente a la que observa en los estudios publicados sobre hipofisectomía en perros con HAC (Hanson y col 2005). En los resultados publicados de perros con HAC tratados quirúrgicamente se describen la evolución de la enfermedad, la aparición de recaídas y la evolución de los niveles hormonales, diferenciando aquellos que tienen microadenomas de los que tienen macroadenomas, datos que se desconocen en perros tratados con radioterapia, tal y como describe Kleyerleber y colaboradores en su publicación de 2012. Por ello, la evolución clínica y hormonal en los pacientes de este estudio se compara y discute principalmente comparando los resultados obtenidos mediante cirugía.

El tratamiento del hiperadrenocorticismo canino, independientemente de la terapia empleada, se monitoriza en base a **la evolución de la sintomatología y a los resultados de la estimulación con ACTH**. En el presente estudio, y en todos los casos, los dueños observaron una mayor reactividad de los animales ya durante la primera semana tras el procedimiento, como pudo comprobarse en la consulta. Asimismo, se apreció una mínima disminución tanto de la polifagia como de la ingesta de agua y de la micción. Los perros con macroadenoma y con síntomas neurológicos tuvieron una disminución de esta sintomatología desde la primera semana de tratamiento, mostrando mayor conexión con el entorno, abandonando su estado de estupor y obnubilación y encontrándose menos aletargados.

En los resultados de la estimulación con ACTH ya desde la primera semana se apreció una leve caída de los valores de cortisol plasmático tras la estimulación. No obstante, todos los pacientes con macroadenomas necesitaron tratamiento de apoyo con trilostano, a dosis menores que las que tenían pautadas previamente, para controlar la sintomatología propia de la enfermedad. Por el contrario, en el grupo de perros con los microadenoma solo 4 de 7 necesitaron este tratamiento tras esta primera semana.

La evolución de la sintomatología en el grupo de perros con microadenoma fue favorable, siendo necesario en 4 pacientes un tratamiento de apoyo para controlar sus síntomas a partir de la primera semana, si bien durante el primer trimestre fue necesario solo en 3 casos. Cabe destacar que al 6º mes del tratamiento una de las hembras (P4) durante el proestro presentó signos clínicos y niveles de cortisol post estimulación con ACTH indicativos de hipercortisolismo, normalizándose estos valores y volviendo a eucortisolismo tras realizarle una ovariectomía. Sin embargo, el paciente P9 precisó tratamiento de apoyo desde la primera semana y no pudo abandonarlo nunca, aunque solo fue necesaria la mitad de la dosis que se le administraba previamente al tratamiento. El comportamiento del tumor hipofisario de este perro fue similar al observado en los perros con macroadenoma. Es más, este paciente en el estudio de imagen presentaba leve extensión supraselar y un índice P/B por encima de  $0,31 \times 10^{-2}$ , lo que hace cuestionarnos de nuevo si no sería necesario establecer otro criterio diferente a los 10 mm en el diagnóstico diferencial entre macro y microadenomas. A largo plazo, solo 1 animal diagnosticado como microadenoma necesitó trilostano para controlar los niveles de cortisol y la sintomatología de la enfermedad.

En el grupo de perros con macroadenoma, aunque los valores del cortisol plasmático tras la estimulación con ACTH en general mostraron una tendencia clara y progresiva a la baja con leves fluctuaciones a lo largo del tiempo, en ningún caso sus medidas se situaron en el rango de la

normalidad (< 18-19 mcg/dl). Los datos analíticos se acompañaban de la persistencia de los signos clínicos propios del HAC. Por ello, todos los animales necesitaron tratamiento de apoyo para controlar la sintomatología. Solo uno de los animales, excluyendo el que inicialmente mostraba hipocortisolismo, pudo abandonar el tratamiento a los 15 meses, necesitando posteriormente terapia con mineralocorticoides al mostrar síntomas de hipoadrenocorticismo. Estos resultados se correlacionan con el estudio de Goosens (1998), en el que observó que incluso a los 43,6 meses tras finalizar el tratamiento radioterápico los resultados de la estimulación con ACTH nunca alcanzaron la normalidad, mientras que la ACTH endógena bajó inmediatamente después de la RT, aunque con fluctuaciones durante 12 meses. En cuanto a los signos clínicos, algunos pacientes mostraron mejoría de la sintomatología a las 4 semanas post-tratamiento (Goosens y col. 1998). Sin embargo los perros aquí incluidos evidenciaron una mejora de la sintomatología neurológica desde los primeros momentos, aumentado sustancialmente su estado de alerta, como se comprobó desde la primera consulta y en las sucesivas, hasta que volvieron a presentar sintomatología neurológica a los 6 meses en un caso y a los 11 en otro. Goosens (y col. 1998) documenta que ninguno de sus pacientes tuvo signos relacionados con el SNC durante el primer año, aunque la sintomatología de HAC mejoró incompleta o transitoriamente, causa por la que todos necesitaron tratamiento de apoyo. Existe otra referencia en la que la recurrencia de la sintomatología neurológica apareció a los 994 días de terminar la terapia (Kent y col. 2007). En ese mismo estudio, en un tercio de los perros con signos del SNC tratados desapareció su sintomatología, otro tercio mostró una resolución transitoria y el resto no sufrió cambios (Kent y col. 2007). En general, los signos neurológicos relativos a llantos, obnubilación, deambular sin rumbo y apatía desaparecieron rápidamente, sin embargo las alteraciones en la respuesta del reflejo pupilar en P1 permanecieron hasta el primer trimestre en que se normalizó, pero reapareció ya en ambos ojos en el tercer trimestre, por lo que supusimos era debido a recidiva neoplásica, mientras que en P5 apareció esa misma alteración en el 6º mes, un mes antes de su muerte. En la necropsia de P5 se evidenció macroscópicamente una reducción de tamaño del tumor, que tenía unas medidas de 11 mm en su diámetro DV, 11 mm AP y 10,5 mm LL, siendo las dimensiones antes del tratamiento de 14,4 x 13,6 x 11,5 mm. El estudio histológico de este paciente reveló que la masa era un carcinoma cromóforo de la *pars distalis* hipofisaria. Así que se podría asegurar, a pesar de la reducción de tamaño observada, que hubo una recidiva tumoral. Se ha demostrado que los carcinomas son menos radiosensibles que los adenomas (Ganz 2011) y por tanto tienen peor pronóstico y mayor tasa de recidivas que los segundos (Meij y col. 1997).

La paciente que desarrolló hipoadrenocorticismo (P3), que se correspondió con el perro con macroadenoma más longevo de este estudio, oscureció el color de su capa a lo largo del

seguimiento, a partir del 6º mes, pasando de ser casi blanca con cabos coloreados hasta llegar a ser negra el día que fue eutanasiada. En esta paciente se realizó una RM de control al año del tratamiento que puso en evidencia el crecimiento de la neoplasia hipofisaria, mostrando unas medidas de 16,0 mm en altura, 11,5 mm de largo, y 12,1 mm de ancho, lo que significa una diferencia con las previas expuestas de 4,2; 0,6 y 1,6 mm respectivamente, lo que inequívocamente indica un crecimiento tumoral. En la evolución hormonal comprobamos que la única variación en relación con el resto de pacientes es que en este caso, los niveles de  $\alpha$ -MSH comenzaron a incrementarse a partir del 6º mes, lo que indicaría, tal como se demostró por imagen, una recidiva neoplásica y que ésta afectaba principalmente a la parte intermedia de la glándula, como se apreció posteriormente en el estudio histopatológico de necropsia. Existen datos publicados que afirman que existe una correlación entre los niveles altos de  $\alpha$ -MSH y un mayor tamaño de la neoplasia (Bosje. y col. 2002) y entre estos valores hormonales y la posibilidad de recurrencia de la enfermedad, por lo que se ha postulado que los niveles de  $\alpha$ -MSH podrían ser un factor predictivo de recurrencia tras la cirugía (Hanson y col. 2007). En este caso, a diferencia de lo que se observa generalmente donde las recurrencias se acompañan de un aumento de ACTH, los niveles de cortisol post-estimulación y los de ACTH endógena permanecieron bajos. Hay autores que señalan que en ocasiones el tumor de la parte intermedia comprime la *pars distalis* hipofisaria, induciendo atrofia de la misma y disminución por tanto de los niveles de ACTH, ya que la *pars intermedia* produce menos cantidad de esta hormona (Capen 2007). Aproximadamente el 71-80% de los adenomas hipofisarios afectan a la *pars distalis* y el porcentaje restante, entre una cuarta y una quinta parte de los casos, proceden de la *pars intermedia* (Peterson y col. 1982 y 1986). Los tumores de la parte intermedia pueden pertenecer a su vez a dos estirpes diferentes, los que producen una gran cantidad de  $\alpha$ -MSH y no son supresibles con dexametasona, y otros que muestran unos valores ligeramente altos de  $\alpha$ -MSH pero son relativamente supresibles con dexametasona (Peterson y col. 1986), sin existir datos de la proporción de presentación de cada uno de ellos. Esto tiene interés clínico, no solo porque los tumores de la *pars intermedia* tienden a ser de mayor tamaño que los del lóbulo anterior (Peterson y col. 1982), sino porque la síntesis hormonal de esta porción intermedia está bajo un doble control, hipotalámico y neural, siendo este último mediante inhibición tónica dopaminérgica que suprime la expresión de los receptores de los glucocorticoides (Kemppainen y col. 1987). De esta manera se explica por qué los adenomas con origen en la parte intermedia son resistentes a la supresión con dexametasona. A esta paciente no se le realizó inicialmente una supresión con dexametasona pues su cociente cortisol/creatinina en orina tomado durante 3 días y los valores de cortisol tras la estimulación con ACTH ya eran diagnósticos. No obstante, el



cambio de coloración no se manifestó hasta tiempo después del tratamiento, si bien ya presentaba sintomatología de la enfermedad antes de ser remitida a nuestro centro al menos dos años antes. Nuestra conclusión, a pesar de la carencia de pruebas analíticas que lo corroboren, es que posiblemente coexistían los dos tipos de células tumorales hipofisarias, aunque las de la región intermedia no se expresaron lo suficiente hasta su recaída tras el tratamiento. A su vez podría indicar una mayor resistencia o tolerancia a la irradiación de esta estirpe celular.

En relación a los **efectos secundarios** a corto medio y largo plazo, los resultados de este estudio indican que se trata de un procedimiento de gran seguridad. Hay que señalar que uno de los perros falleció en las primeras 24 horas post-tratamiento por una pancreatitis secundaria al procedimiento anestésico. Este paciente fue uno de los 2 casos en que hubo que mantener el plano anestésico con una infusión de propofol durante 12-15 minutos. Ambos pacientes mostraron 12 horas después de la recuperación anestésica sintomatología compatible con pancreatitis aguda. Estos dos pacientes no manifestaron alteraciones durante la monitorización anestésica, tales como disminución de la presión arterial o alteraciones en el capnograma o arritmias cardíacas. A este respecto, en humanos, algunos estudios relacionan la aparición de pancreatitis postanestésica con la infusión de propofol, generalmente en pacientes predispuestos a padecerlas, como los enfermos con Cushing o con alteraciones metabólicas (hipercolesterolemia) (Priya y col. 2005; Betrosian y col. 2001; Kumar y col. 1999; Bird y Brim 2000). Incluso se ha relacionado la infusión de propofol con la aparición de pancreatitis en ratas, comprobando la presencia vasculitis necrotizante en la grasa peripancreática (Dönmez y col. 1999). No se dispone del estudio de necropsia en el paciente que falleció postratamiento debido a que el propietario, aun habiendo firmado antes del procedimiento este compromiso, no accedió a la misma. Por otro lado, no hubo ninguna otra muerte durante el tratamiento o en horas sucesivas que fueran directamente atribuibles al procedimiento radioquirúrgico en sí. La única complicación imputable al mismo se observó en dos pacientes en los que las heridas de los tornillos con los que se coloca el marco estereotáctico tardaron más de lo habitual en curar.

En la radioterapia convencional realizada en perros se han descrito efectos secundarios a corto plazo, como alteraciones cutáneas, alopecias y cambios de coloración capilar (leucotriquia)(Benczik y col. 2002), situados en las zonas de incidencia de los haces de irradiación. Generalmente son alteraciones temporales (Goosens y col. 1998; Kent y col. 2007). También se han descrito otitis externa moderada y/o faringitis (Goosens y col. 1998). Se ha observado que algunos perros pueden presentar letargia transitoria y somnolencia durante el tratamiento por el efecto de la RT sobre el cerebro (Mayer y Treuil, 2007). En este ensayo clínico solo 2 perros

presentaron cierta somnolencia al día siguiente del tratamiento, transitoria y que se resolvió espontáneamente. Los estudios de Brearly y colaboradores (1999) apreciaron deterioro neurológico inespecífico en algunos perros a los 2-3 días tras la primera dosis, que mejoró en las 2 semanas siguientes y que atribuyeron a una inflamación del tumor como reacción primaria a la radiación, habiéndose señalado similares alteraciones en medicina humana (Plowman y col. 1987). La reacción inflamatoria neoplásica podría explicar en cierta forma la somnolencia transitoria que manifestaron al día siguiente de la RCGK dos de los pacientes incluidos en este estudio.

Para el cálculo de la dosis a utilizar se ha tenido especial cuidado en que las zonas cerebrales circundantes recibiesen una dosis de radiación tolerable, debido a que el cerebro es bastante sensible tanto a la dosis fraccionada como a la total acumulada (Harris y col. 1997). En especial se intentó evitar lesiones del área diencefálica muy próxima a la glándula, para lo que se contaba con la gran ventaja del método, la aplicación de una dosis única que es la principal novedad del diseño del equipo y que permite aplicar la dosis con 192 portales de entrada distintos. Así, la energía de cada uno de estos haces que atraviesan los tejidos sanos por separado está muy por debajo de la radiotoxicidad e incluso es mucho menor que la que se consigue con el fraccionamiento clásico. Estos haces se hacen confluír en la neoplasia mediante un sistema informático al que se le indican las coordenadas del tejido a tratar, obtenidas previamente en el estudio de imagen. Con este procedimiento los tejidos externos más cercanos al tumor reciben radiación en dosis tolerable, no obstante, puede llegar a ser limitante en las neoplasias de mayor tamaño. Por este motivo, el límite de tamaño de lesión a tratar mediante GK se ha establecido en unos 3 cm de diámetro para evitar posibles radionecrosis, ya que la dosis recibida en las regiones adyacentes está en función del volumen del tejido a tratar y por tanto es un factor restrictivo a la hora de prescribir la dosis (Ganz 2011).

Una de las principales estructuras a tener en cuenta por su proximidad a la hipófisis son las vías ópticas (II par craneal). En humanos se ha comprobado que la tolerancia de las vías ópticas alcanza los 8 Gy sin generar problemas, aunque puede ampliarse hasta los 10 Gy (Martínez y col. 1998), sin embargo con esta dosis pueden manifestarse, a largo plazo, alteraciones visuales (Milano y col. 2011). En el presente trabajo valoramos el coste riesgo/beneficio, y en estos perros las vías ópticas fueron radiadas dentro de un rango de 8,5 a 28,0 Gy, con una media de  $13,0 \pm 5,1$  Gy. Estas dosis implicaron asumir el riesgo de aparición de ceguera en 5 de los pacientes y en otros 2 la posibilidad de pérdida parcial de la visión, mientras que el resto no deberían encontrarse afectados. Este riesgo se consensuó previamente con los propietarios de las

mascotas. Tras el seguimiento de los animales tratados sólo hemos apreciado una pérdida total de visión en dos pacientes, en un caso debido a cataratas diabéticas, sin poder comprobar posteriormente mediante necropsia el estado de las vías ópticas al no disponer del cadáver, y en el otro caso la mascota permanece viva y la ceguera se desarrolló a los 6 años y medio tras el procedimiento, por lo que no podemos asegurar si está o no relacionado con el, aunque su aparición ha sido lenta y progresiva. Según describen otros autores cuando la ceguera es secundaria a radionecrosis la evolución es rápida, en unos 2-5 días (Brearly y col. 1999).

Las lesiones a largo plazo producidas por la irradiación aparecen al menos un año después de finalizar el tratamiento, son irreversibles y se producen en los tejidos de crecimiento lento localizados en el campo de acción de la fuente (Mayer y Treuil 2007). En el hombre se ha comprobado que estos efectos pueden ocurrir incluso pasados 20 años de la irradiación (Dropcho 2010). En los perros estos efectos incluyen: por incidir sobre los conductos cocleares, sordera completa o parcial; sobre el cerebro (estructura limitante de la dosis a aplicar) puede provocar necrosis y gliosis (Mayer y Treuil 2007), alteraciones del nervio trigémino o del vestibular, conjuntivitis y queratoconjuntivitis seca e hipopigmentación, que pueden aparecer después del primer año tras la RT (Goosens y col. 1999). Los riesgos de padecer alguno de los efectos colaterales dependen del volumen del tumor tratado y de la dosis diaria o total recibida (Mayer y Treuil, 2007). A largo plazo, si las dosis han sido muy altas, además de sordera por la afectación del VIII par craneal y ceguera por el II par, puede producirse sintomatología relacionada con radionecrosis del SNC, que histológicamente se detecta como malacia, telangiectasia y hemorragias secundarias a proliferación endotelial (Brearly y col. 1999). Estos daños cerebrales en sus primeras fases comienzan con una necrosis focal y hemorragias secundarias a la proliferación del endotelio vascular (Yamaguchi y col. 1981). Además de una inflamación extensa con gliosis podemos observar la presencia de hemorragias perivasculares, necrosis de la materia blanca, con destrucción de la mielina y de los axones, y destrucción de los capilares, con eritrocitos y exudado a su alrededor e infiltrados de macrófagos (Leksell y col. 1960), apreciándose con el tiempo una cicatriz con gliosis y un área necrótica con fragmentos nucleares y marcada desmielinización, y reacciones perivasculares con presencia de material hialino (Benczik y col. 2002).

En el estudio histopatológico de la paciente P3 se observó un aumento del tamaño tumoral confirmado por RM, mostrando una masa de 18 (LL) x17 (DV) x21 (AP) mm que presionaba sobre el diencéfalo. El estudio histológico de esta perra confirmó que el tumor tenía su origen en la parte intermedia hipofisaria, tal y como suponíamos al observar el cambio de capa

evidenciado en su evolución. Como mencionamos anteriormente estos tumores tienen un peor pronóstico que los de la parte distal de la adenohipófisis (Peterson y col. 1982).

Otro de los pacientes, P10, también mostró en la histología un adenoma de la *pars intermedia*. Sin embargo, en este caso el tamaño tumoral se había reducido, siendo sus medidas en la necropsia de 7 DV x 6 AP y 5 LL mm respectivamente. Hay que señalar que este perro mostraba el tumor de mayor tamaño de todos los observados en la RM, con un diámetro ventrodorsal de 22 mm, lo que nos indicaría que el tratamiento cumplió su misión reduciendo el tamaño neoplásico, aunque sin embargo no se produjo cambio de la coloración ni incrementos significativos de la  $\alpha$ -MSH. Lo que llamaba la atención es el hecho de que siendo de menor tamaño presentaba sintomatología neurológica muy similar a la que mostraba antes del tratamiento donde existía una masa mucho mayor. La literatura refiere que el 56% de perros con HAC hipofisario y sintomatología neurológica central no tenían un tumor detectable o bien padecían un microadenoma mediante TC o RM (56%) (Wood y col 2007). Pero en este caso el estudio histopatológico reveló focos de radionecrosis en el área hipotalámica. En general, en ninguno de los restantes perros diagnosticados como macroadenomas a los que se les realizó necropsia se apreciaron lesiones sugerentes de radionecrosis en las estructuras cerebrales cercanas a la hipófisis, y las áreas de gliosis encontradas próximas a la corteza y en el diencéfalo parecen estar más en relación con cambios propios de la edad, ya que no mostraron otras alteraciones típicas como oclusiones vasculares e infarto, ni hialinización en esas regiones, ni focos de necrosis. Sí se observó hialinización intratumoral, debida al tratamiento en los 4 animales, pero a pesar de conseguir la necrosis neoplásica 3 de los tumores fueron capaces de reorganizarse y recidivar.

En el estudio uno de los perros manifestó queratoconjuntivitis seca a partir de los 4 meses del procedimiento, si bien no lo relacionamos con la dosis absorbida debido a la reducida cantidad que recibió en el globo ocular. No parece que esta alteración se correlacione con el tamaño tumoral (Hanson y col. 2005), debiendo señalarse que en la hipofisectomía esta alteración se ha relacionado con la neuropraxia directa (traumática) o indirecta (isquémica) de los principales nervios que discurren por la región petrosa del temporal, conduciendo a una deficiencia secretomotora de las glándulas lagrimares (Meij y col. 1997). No obstante, se ha demostrado que la producción de lágrimas depende de hormonas pituitarias y se ha relacionado su descenso de producción con endocrinopatías como el HAC, por lo que en caso de producirse alteraciones de sus niveles puede inducir la aparición de QCS (Peirce y Williams, 2004).

Ninguno de los perros tratado con RCGK manifestó alteraciones neurológicas relacionadas con el tratamiento en los primeros meses de control. Se ha descrito que a las 2-3 semanas de terminar el tratamiento con RT pueden aparecer signos neurológicos similares a los observados previamente, que generalmente son temporales y se resuelven por sí mismos o mediante el empleo de esteroides (Mayer y Treuil, 2007). En el estudio de Brearly y colaboradores (1999) observaron áreas de radionecrosis cerebral en aproximadamente el 15% de los perros tratados confirmados mediante necropsia, si bien en este estudio se mezclan distintos tipos tumorales, siendo el deterioro neurológico muy rápido, y llegando a coma en 4-5 días, a diferencia de los que recaen, cuya evolución neurológica es progresiva, pudiendo aparecer a los 8,5 meses tras el tratamiento (Brearly y col. 1999, Kent y col. 2007). Estas lesiones fueron irreversibles y su desenlace fatal. Por otro lado la cirugía también muestra complicaciones a largo plazo como son la diabetes insípida central en un 62% de los perros con macroadenomas y en un 44% con microadenomas. Otra de las posibles complicaciones es la hipofisectomía incompleta, con progresión de la enfermedad. (Hanson y col. 2005), el hipotiroidismo secundario paliado por tratamiento hormonal sustitutivo (Meij y col. 2002; Hanson y col. 2005; e Ishino y col. 2009) y la queratoconjuntivitis seca que aparece en un 31,3 % de los perros y que en algunos casos remite con el tiempo, aunque puede permanecer durante toda la vida y que generalmente aparece poco después de la cirugía (Hanson y col. 2005). Todas estas complicaciones pueden tratarse mediante hormonoterapia, y en el caso de la queratoconjuntivitis seca mediante colirios.

A largo plazo, transcurrido el primer año, se esperaban complicaciones en alguno de los pacientes del estudio tratados con RCGK, como panhipopituitarismo, mientras que en aquellos que recibieron más de 10 Gy en las vías ópticas la aparición de ceguera o de anomalías relacionadas con el VI par craneal (abducens) o el III (oculomotor). Uno de perros manifestó alteraciones del III par postciliar, aunque en este caso la necropsia confirmó la extensión tumoral en el seno cavernoso. No podemos asegurar que ninguno de los casos haya habido alguna pérdida de la capacidad visual, en cuanto a porciones del campo visual se refiere, pues no se han realizado determinaciones de los potenciales evocados visuales. Pero en ningún caso existieron alteraciones en la orientación del globo ocular, lo que indica la ausencia de afectación de los pares craneales III (vía eferente), IV y VI, ni de la sensibilidad palpebral (V par).

Solo un perro de este estudio, P1, desarrolló hipotiroidismo a partir del 6º mes tras el tratamiento.

El análisis de la evolución de los niveles de las hormonas secretadas por la adenohipófisis tras el tratamiento con radiocirugía en los perros del presente estudio mostró que la reducción de

los niveles hormonales tras el tratamiento no tiene una relación estadísticamente significativa con el tamaño del tumor hipofisario, tal y como han documentado en veterinaria otros investigadores (Meij y col. 1997, Goossens y col. 1998).

La hipofisectomía consigue una remisión de la sintomatología a las 8 semanas, sin embargo el eje corticotropo sigue respondiendo en menor medida que el resto de las hormonas que reducen sus niveles inmediatamente tras la cirugía (Meij y col. 1997). No obstante, Ishino y colaboradores (2009) encontraron que los valores de cortisol postestimulación con ACTH remiten a valores normales en el caso de los perros con microadenoma a las 2 semanas. En ninguno de los estudios en los que se emplea radioterapia para el tratamiento del HAC canino se efectuaron seguimientos de los niveles hormonales, indicándose únicamente que el control de la sintomatología tarda al menos 4 semanas y con recurrencias a los 6-9 meses (Goossens y col. 1998). En los perros de este estudio los niveles hormonales se redujeron, aunque se apreciaron picos aislados en las gráficas de la ACTH en 2 de los casos con microadenomas. En el grupo de perros con microadenoma hipofisario se observó una tendencia a la disminución de los niveles de ACTH endógena desde la primera semana de tratamiento, hallazgo que no se apreció en los perros con macroadenoma, sin embargo los valores se mantuvieron durante toda la evolución por encima del rango fisiológico en todos los casos.

La ADH presentó fluctuaciones en ambos grupos, perros con macroadenomas y microadenomas, posiblemente debidos a la secreción pulsátil hormonal, y si esto fuera así se consideraría un factor pronóstico positivo la recuperación de la pulsatilidad, dado que esta se encuentra reducida en los perros con HACH previamente a la cirugía (Hanson y col. 2007). En general la ADH no mostró alteraciones ni antes ni después del tratamiento, manifestando variaciones a lo largo del tiempo sin una tendencia específica, posiblemente, como se ha mencionado ya respondiendo a un patrón pulsátil para adaptarse a las necesidades puntuales de cada animal, correlacionándose con los datos aportados por otros estudios (Hanson y col. 2005; Meij y col. 1996).

Las fluctuaciones observadas en los niveles de IGF-1 pueden ser debidas a varios factores. Los niveles de IGF 1 se correlacionan positivamente con los niveles de GH e insulina, por lo que los picos que observamos en alguno de nuestros pacientes en la somatomedina C pueden estar en relación con niveles de insulina y la falta de ayuno previa a la visita. Generalmente la hormona de crecimiento suele tener valores inferiores a los fisiológicos o muy reducidos en los perros con HACH antes de la éxeresis del tejido tumoral (Lee y col. 2003), dato que puede explicar el por qué casi todos los animales en nuestro estudio muestran valores por debajo o en el límite inferior de

los de referencia ya antes del procedimiento. Previamente al tratamiento los perros con microadenoma mostraban valores de IGF-1 dentro del rango fisiológico, aunque próximos al límite inferior, apreciándose en todo el grupo una media de  $198,29 \pm 71,24$  pg/ml. Tras la radioterapia, a los 3 meses, el valor medio del grupo se situó en los  $389,0 \pm 318,2$  pg/ml, con un incremento hasta alcanzar cifras fisiológicas en 4 de 7 perros. En el caso de los macroadenomas el valor medio anterior al tratamiento era menor que en el grupo de los microadenomas, siendo de  $137,72 \pm 72,97$  pg/ml, observándose tras el tratamiento una pobre recuperación de los valores, manteniéndose siempre por debajo del nivel fisiológico en la mitad de ellos ( $n=3$ ), salvo P1 y P3 que mostraban cifras en el rango de la normalidad ocasionalmente (gráfica H16 en resultados). En general los perros y los humanos con HACH secretan menos GH y con menos pulsos que los no enfermos (Veldman y col. 2000; Lee y col. 2003), pudiendo ser debido a la secreción de cantidades suprafisiológicas de glucocorticoides, que pueden inhibir la liberación de GH por alteración del tono hipotalámico de la somatostatina (Muller y col. 1999). Se ha comprobado en humanos que ante la presencia de un adenoma corticotropo, el resto de las hormonas del lóbulo anterior muestran reducción de sus niveles encontrándose más afectada la GH, seguida de la LH/FSH y estas de la TSH, con menor incidencia sobre la Prolactina (McDermott 2014). También se ha postulado que en algunas ocasiones la reducción del resto de las otras hormonas hipofisarias sea debido simplemente a una cuestión mecánica, causada por la presión que ejerce el macroadenoma sobre las otras células hipofisarias y sobre el tallo hipofisario (McDermott 2014; Meij y col. 1997), pudiendo ser una explicación plausible en el caso de los perros con macroadenomas. No obstante, también se ha postulado que el exceso de glucocorticoides induce una reducción de la liberación de la hormona del crecimiento GH, de la TSH y de la LH por un efecto directo sobre las gónadas y la glándula tiroides, y/o al transporte y metabolismo de sus productos, influyendo sobre la sensibilidad del control ejercido por la retroalimentación a nivel hipofisario e hipotalámico. (Meij y col. 1997). Los valores de GH, y por tanto los de IGF1, en estos perros se cree que disminuyen por una acción directa del exceso de corticoides y/o un efecto indirecto causado por la obesidad que padecen estos pacientes (Meij y col. 1997).

Se ha señalado que los niveles elevados de  $\alpha$ -MSH previos a la hipofisectomía poseen un valor predictivo, junto con variables como el tamaño del tumor, la edad del paciente y los niveles de ACTH endógena, de la recurrencia de enfermedad (Hanson y col. 2007). Sin embargo P3, que tras el tratamiento mostró un incremento notable de esta hormona a partir del 6º mes, no presentaba valores elevados antes del procedimiento. Por otro lado, los perros que muestran niveles muy elevados de esta hormona evidencian un comportamiento más agresivo del tumor, tal y como se aprecia en humanos con niveles altos de POMC que se asocian con tumores más

agresivos (Raffin-Sanson y col. 1989). El paciente P10 también mostró en el estudio histológico una neoplasia similar, sin embargo al igual que P3 los valores de  $\alpha$ -MSH antes del procedimiento eran bajos, y en P10 siguieron reducidos durante toda su evolución, por lo que aunque ambos tumores eran del mismo tipo sus comportamientos fueron diferentes a lo largo del tiempo. Es más, ambos pacientes fueron los más longevos dentro del grupo de los perros con macroadenoma. Desgraciadamente no se cuantificaron los niveles de péptidos derivados del POMC que generalmente suelen estar elevados en los tumores de la parte intermedia, sirviendo como factor predictivo de su evolución (Bosje y col. 2001), e incluso como indicadores del tamaño de la lesión, apreciándose muy buena correlación, y dan idea de la agresividad de los mismos. (Granger y col. 2005).

La expansión de los adenomas corticotropos puede inducir una disfunción neurohipofisaria que conduce a deficiencia de la hormona vasopresina (Biewenga y col. 1989). Incluso se ha comprobado que los niveles basales de ACTH, cortisol y Prl en los perros con HACH están significativamente altos en comparación con los de perros sanos, y los de GH se encuentran disminuidos, al igual que los niveles de LH que se encuentran más reducidos al compararlos con perros sanos castrados de ambos sexos (Meij y col. 1997). En este estudio los animales mostraban un IGF1 antes del tratamiento por debajo de los valores fisiológicos, tanto en aquellos con microadenoma como con macroadenoma, y salvo en casos puntuales, a lo largo del tiempo nunca volvió a sus valores fisiológicos. La LH sin embargo en los perros con microadenoma se encontraba por encima de la media y continuó alta, sobre todo en el perro P11 (gráficas H11 y H12). En los perros con macroadenoma esta hormona presentaba valores inferiores a los observados en los animales con microadenoma, permaneciendo más baja que en los perros sanos.

La Prolactina, al igual que en el estudio mencionado previamente (Meij y col. 1997), mostraba unos niveles por encima de los de referencia, tanto en los perros con microadenoma como en los perros con macroadenoma, y así se mantuvo durante todo el seguimiento. Se han postulado varias teorías que explicarían estas disfunciones hormonales, entre otros la secreción de varias hormonas por las células neoplásicas al estar constituido el tumor por poblaciones celulares que producen dos o más hormonas (adenomas monomorfos), o adenomas con diferentes poblaciones celulares, cada una de ellas productora de una hormona (plurimorfos) (Meij y col. 1997), pero aún no se conoce bien el mecanismo.

La secreción hormonal de los tumores hipofisarios en perros con HAC no está en función de su tamaño (Peck y col. 1989). Partiendo de esta premisa, y con el fin de predecir el volumen del



tumor hipofisario en perros con HAC, se podrían analizar los niveles de POMC, ya que se ha demostrado que están relacionados con el tamaño tumoral en perros y en humanos (Bosije y col. 2002; Granger y col. 2005).

En la especie canina **la supervivencia** media en perros con tumores hipofisarios descrita tras una RT varía según los estudios entre los 365 y los 760 días (Dow y col. 1990; Theon y Feldman, 1998). En el estudio de Brearly y colaboradores (1999) obtuvieron una supervivencia media en los perros con adenoma hipofisario de 147 días  $\pm$  133, que se aleja de las expresadas por otros autores. Mariani, en su estudio refiere una supervivencia de 118 días para los perros con adenoma hipofisario, sin embargo no señala si se correspondían a microadenomas, a macroadenomas o a ambos (Mariani y col. 2015).

Fornel y colaboradores (2007) evaluaron por separado la supervivencia de perros con macroadenomas, observando una duración media de 688 días, mientras que en el estudio de Kent y colaboradores la supervivencia fue de 1405 días en perros con macroadenomas radiados con 48 Gy. En el presente estudio la supervivencia media de los perros con macroadenoma fue de 375,8 días  $\pm$  232,14, siendo esta muy elevada, ya que generalmente muchos perros con macroadenomas confirmados por imagen son posteriormente eutanasiados debido a la sintomatología neurológica avanzada que presentan.

Los pacientes del estudio con microadenoma tuvieron una supervivencia media de 38,86  $\pm$  33,16 meses, que en días se corresponde con 1123,71  $\pm$  893,14, (40 a 2798 días), siendo sensiblemente superior a los 730 días referidos por Den Hertog y colaboradores (1999), o a los de 985  $\pm$  57 días observados por Arenas (2011), en ambos casos en perros tratados con mitotano, mientras que la supervivencia media fue de 662 días (Barker y col. 2005) o de 1051  $\pm$  78 días (Arenas 2011) en los que reciben tratamiento con trilostano. Si comparamos con los resultados obtenidos mediante radiocirugía por Mariani, la supervivencia observada en nuestro estudio es ligeramente superior, si bien no existen datos sobre la evolución de sus pacientes ni se discrimina por tamaño a los tumores (Mariani y col. 2015).

En el estudio de Theon y Feldman (1998) las supervivencias son mayores, con 760 días como media, estando relacionada con el tamaño tumoral y la existencia de sintomatología neurológica, de manera que a mayor tamaño tumoral y mayor sintomatología neurológica menor supervivencia, siendo más prolongada en los de menor tamaño y sin sintomatología del SNC, dato que está en concordancia con lo evidenciado en los perros tratados mediante RCGK. Entre los perros de este estudio tratados con RCGK y que presentaban macroadenoma, se incluían dos

animales con sintomatología neurológica marcada antes del tratamiento y que vivieron 6 y 13 meses respectivamente. Estos animales sin esta opción terapéutica hubieran sido sacrificados a las pocas semanas de su diagnóstico debido a su estado neurológico.

Otro dato a tener en cuenta en los perros tratados con RCGK es la edad en la que se produce la muerte de los animales, que en nuestro caso se encuentra en una media de  $10,8 \pm 1,33$  años para perros con macroadenoma y una media de  $13,81 \pm 1,66$  años para aquellos con microadenoma, edades que se encuentran dentro del rango de la esperanza media de vida en el caso de los perros con microadenoma.

La supervivencia media de los perros con HAC tratados con cirugía es superior o igual a 3 años en el 72% de los casos, y de ellos un 65% no presenta recurrencia de su patología (Hanson y col. 2002; Meij y col. 2002).

Podríamos concluir que en el hiperadrenocorticismo hipofisario canino la radioterapia es una buena opción terapéutica y que la RCGK muestra una tasa de efectividad comparable, con la ventaja de que al realizarse en una única sesión reduce el riesgo causado por las anestias repetidas. Frente a la cirugía hipofisaria la RCGK tiene la ventaja de que el postoperatorio es más corto y menos doloroso al no ser una técnica invasiva. Sólo se ha observado un caso en que se produjese sintomatología que pudiera ser atribuible al procedimiento, radionecrosis, la más grave, en un paciente con macroadenoma de gran tamaño. Observamos un descenso paulatino de los valores hormonales a lo largo del tiempo consiguiendo el control de la sintomatología en la mayoría de los casos incluidos en el grupo de perros con microadenoma, mientras que en los perros con macroadenoma ha permitido una buena calidad de vida, si bien fue necesario un tratamiento de apoyo para el control de la enfermedad. El tratamiento médico de apoyo en perros de razas grandes o de gran envergadura a largo plazo encarece el postoperatorio, pero hay que tener en cuenta que en ninguno de los casos del estudio se sobrepasó la mitad de la dosis que tenían prescrita con anterioridad.

Es importante realizar un diagnóstico lo más temprano posible para evitar que los tumores alcancen un gran tamaño y puedan causar sintomatología neurológica, por lo que coincidiendo con otros autores es de vital importancia realizar estudios de imagen mediante RM o TC, lo que permite alcanzar mayores tasas de supervivencia (Moore y O'Brien 2008).

En base a estos resultados, y coincidiendo con otros autores, es recomendable realizar un tratamiento etiológico siempre que se observe una discreta extensión supraselar de la lesión hipofisaria, evitando así los casos en que los tumores no puedan ser extirpados en su totalidad o

que no puedan ser tratados sin riesgos de radionecrosis, o incluso antes de que haya que plantearse irradiar con dosis mayores de 10 Gy las vías ópticas.

Sin lugar a dudas con la RCGK se consigue un control de los síntomas neurológicos ya desde los primeros momentos, lo que hace de ella que en el futuro sea la técnica de elección para el tratamiento del HACH en los casos con macroadenomas.

Este método, además de no ser invasivo e indoloro, tiene una precisión submilimétrica. Las ventajas que muestra frente a la radioterapia tradicional es la que de los tejidos circundantes a la lesión reciben una dosis en una única sesión perfectamente tolerable, lo que a largo plazo se traduce en una menor radiotoxicidad.

# Conclusiones

---



## **VI. CONCLUSIONES**

1. El tratamiento del hiperadrenocorticismo canino de origen hipofisario producido por un microadenoma mediante radiocirugía con Gamma Knife ha demostrado ser altamente eficaz para el control sintomático y hormonal de la enfermedad.
2. La radiocirugía con Gamma Knife ha mostrado ser igualmente eficiente en la resolución a muy corto plazo de la sintomatología neurológica existente en los perros diagnosticados de hiperadrenocorticismo de origen hipofisario provocado por un macroadenoma, y ha permitido mantener bajo control los signos clínicos de la enfermedad con una reducción importante de la dosis del tratamiento adyuvante con trilostano.
3. La radiocirugía con Gamma Knife ha demostrado carecer de toxicidad a corto y medio plazo tanto en los perros con microadenoma como en aquellos con macroadenoma. A largo plazo, se ha observado radionecrosis en sólo un paciente con un macroadenoma de gran tamaño, lo que supone una proporción de un 8% del total de los animales tratados.
4. La supervivencia de los perros sometidos a este tratamiento diagnosticados de microadenoma ha sido superior a la descrita en perros tratados únicamente con fármacos, trilostano o mitotano. En los perros que presentaban un macrocorticotrofinoma, la supervivencia ha sido notablemente superior a la descrita empleando tratamiento farmacológico.



# Bibliografía

---





## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aron DC.** En Greenspan FS, Gardner DG (eds); *Basic and Clinical Endocrinology*, 6ª ed. McGraw-Hill. New York. 2001.pg 100 y pg 335-354.
- Arenas C.** Estudio de la eficacia, seguridad y tiempo de supervivencia del hiperadrenocorticismo canino hipofisario y adrenal empleando diferentes protocolos de tratamiento médico con mitotano y trilostano. Tesis doctoral. UCM. 2011.
- Auriemma E., Voorhout G., Barthez P.Y.** Determination of optimal window width and level for measurement of the canine pituitary gland height on computed tomographic images using a phantom. *Vet. Rad and Ultrasound*. (2007). Vol. 48( 2): 113-117.
- Badylak SF, Van Vleet JF.** Sequential morphologic and clinicopathologic alterations in dogs with experimentally induced glucocorticoid hepatopathy. *Am J Vet Res*. (1981) 42(8):1310-8.
- Barker E.N., Campbell S., Tebb A.J., Neiger R., Herrtage M.E., Reid S.W.J., Ramsey I.K.** A comparison of the survival times of dogs treated with mitotane or trilostane for pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* (2005). 9:810–815.
- Barthez P.Y., Nyland T.G., Feldman E.C.** Ultrasonographic evaluation of adrenal glands in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1995). 207:1180-1183.
- Barthez P.Y., Nyland T.G., Feldman E.C.** Ultrasonographic of the adrenal glands in the dog, cat and ferret. *Vet. Clin. North Am. Small An. Pract.* (1998). 28: 869-885.
- Barret EJ.** Organization of endocrine control. En: Boron WF, Boulpaep EL. *Medical Physiology*. Ed. Saunders (2005). 1005-22.
- Behrend, E.N.** Actualización de los fármacos utilizados para tratar enfermedades endocrinas en pequeños animales. *Vet. Clin. Small. Anim.* (2006) 36-1087-1105.
- Behrend E.N., Kemppainen R.J.** Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Vet. Clin. of North Am.: Small An. Prac.* (2001). Vol 31 (5) 985-1003.
- Behrend E.N., Kemppainen R.J., Clark T.P., Salman, M. D, Peterson M.E.** Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs: a survey of internists and dermatologists. *JAVMA*. (2002) Vol 220 (11):1643-49.

- Bell R, Neiger R, McGrotty Y, Ramsey I.K.** Study of the effects of once daily doses of trilostane on cortisol concentrations and responsiveness to adrenocorticotrophic hormone in hyperadrenocorticism dogs. *Vet Rec* (2006)159:277-281.
- Benczik J., Tenhunen M., Snellman M., Joensuu H., Färkkilä M., Joensuu R., Abo Ramadan U., Kallio M., deGritz B., Morris G.M., Hopewell J.W.** Late radiation effects in the dog brain: correlation of MRI and histological changes. *Radiotherapy and Oncology* (2002). 63: 107-120.
- Bento P L, Center SA, Randolph JF, et al.** Ultrasonographic adrenal gland width in 276 dogs with non-adrenal disease categorized by age and bodyweight. In proceedings ACVIM Forum 2014. *J Vet Intern Med* 2014; 28:1032.
- Berry C.R., Hawkins E.C., Hurley K.J., Monce K.** Frequency of pulmonary mineralization and hypoxemia in 21 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern Med.* (2000). 14: 151-156.
- Bertolini G., Furlanello T., Drigo M., Caldin M.** Computed tomographic adrenal gland quantification in canine adrenocorticotroph hormone-dependent hyperadrenocorticism. *Vet. Rad and Ultrasound.* (2008) Vol. 9(5):449-453.
- Bertoy E.H., Feldman E.C., Nelson R.W., Duesberg C.A., Kass P.H., Reid M.H., Dublin A.B.** Magnetic resonance imaging of the brain in dogs with recently diagnosed but untreated pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *JAVMA.* (1995) 206(5): 651-656.
- Biete A.** Radioterapia en el tratamiento del cáncer. *Monografías clínicas en oncología.* Ed. Doyma. (1990)
- Biller B.M.K., Grossman A.B., Stewart P.M., Melmed S., Bertagna X., Bertherat J., Buchfelder M., Colao A., Hermus A.R., Hofland L.J., Klibanski A., Lacroix A., Lindsay J.R., Newell-Price J., Nieman L.K., Petersenn S., Sonino N., Stalla G.K., Swearingen B., Vance M.L., Wass J.A.H., Boscaro M.** Treatment of Adrenocorticotropin-Dependent Cushing's Syndrome: A Consensus Statement. *JCEM.* (2008). 93 (7): 2454.
- Bloom W, Fawcett D.W.** Textbook of Histology. (1994). 20 ed. Saunders editors. Philadelphia.
- Bonneville F, Cattin F, Marsot-Dupuch K, Dormont D, Bonneville JF, Chiras J.** T1 signal hyperintensity in the sellar region: spectrum of findings. *Radiographics.* (2006) 26(1):93-113.
- Bosje J.T., Rijnberk A., Mol J.A., Voorhout G., Kooistra H.S.** Plasma concentrations of ACTH precursors correlate with pituitary size and resistance to dexamethasone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Domestic Animal Endocrinology* (2002). 22:201-210.

- Braddock J.A.** Medical treatment of hyperadrenocorticism in the dog. *Aust. Vet. J.* (2003) Vol. 81, (1 & 2): 31-33.
- Braddock J.A., Church D.B., Robertson I.D., Watson A.D.J.** Trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Aust. Vet. J.* (2003). Vol 81(10): 600-607.
- Braddock JA, Church DB, Robertson ID, Watson AD.** Inefficacy of selegiline in treatment of canine pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Aust Vet J.* (2004). 82(5):272-7.
- Brearley M.J., Jeffery N.D., Phillips S.M., Dennis R.** Hypofractionated radiation therapy of brain masses in dogs: a retrospective analysis of survival of 83 cases (1991–1996). *J. Vet. Intern. Med.* (1999). 13:408–412.
- Bruin C. de, Meij B.P., Kooistra H.S., Hanson J.M., Lamberts S.W.J., Hofland L.J.** A Cushing's Disease in Dogs and Humans. *Horm. Res.* (2009).71(1):140–143.
- Burkhardt WA, Boretti FS, Reusch CE, Sieber-Ruckstuhl NS.** Evaluation of baseline cortisol, endogenous ACTH, and cortisol/ACTH ratio to monitor trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *J Vet Intern Med.* (2013) 27(4):919-23.
- Cabrera Blatter, M.F., del Prado, A., Galleli, M.F., D'Anna, E.D., Ivanic J., Esarte, M. Miceli, D.D., Gómez, N.V., Castillo, V.A.** Blidness in dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism: relationship with glucose, cortisol and tryugliceride concentration and ophthalmic blood flow. *Res. in Vet. Sci.* (2011) 92:387-392.
- Capen CC.** Endocrine glands. En Maxie MG editor. Jubb, Kennedy y Palmer's pathology of domestic animals. Saunders/Elsevier. Philadelphia (2007)
- Castillo VA, Cabrera Blatter MF, Gómez NV, Sinatra V, Gallelli MF, Ghersevich MC.** Diurnal ACTH and plasma cortisol variations in healthy dogs and in those with pituitary-dependent Cushing's syndrome before and after treatment with retinoic acid. *Res Vet Sci.* (2009). 86(2):223-9.
- Castillo V.A., Gallelli M.F.** Corticotroph adenoma in the dog: Pathogenesis and new therapeutic possibilities. *Res. in Vet. Sci.* (2010) 88:26–32.
- Castillo V., Giacomini D., Páez-Pereda M., Stalla J., Labeur M., Theodoropoulou M., Holsboer F., Grossman A.B., Stalla G.K., Arzt, E.** Retinoic Acid as a novel medical therapy for Cushing's disease in dogs. *Endocrinology* (2006). 147 (9): 4438-4444.

- Castillo V.A., Gómez N.V., Lalia J.C., Cabrera Blatter M.F., García J.D.** Cushing's disease in dogs: cabergolina treatment. *Research in Vet. Sci.* (2008). 85:26-34.
- Castillo V., Theodoropoulou M., Stalla J., Gallelli M.F., Cabrera-Blatter M.F., Haedo M.R., Labeur M., Schmid H.A., Stalla G.K., Arzt E.** Effect of SOM230 (Pasireotide) on corticotropic cells: action in dogs with Cushing's disease. *Neuroendocrinology* (2011) 94: 124-136.
- Castillo V.A., Gómez N.V., Lalia J.C., Cabrera Blatter M.F., García J.D.** Cushing's disease in dogs: cabergolina treatment. *Res. Vet. Sci.* (2008). 85 (1): 26-34.
- Castinetti F., Nagai M., Morange I., Dufour H., Caron P., Chanson P., Cortet-Rudelli C., Khn J-M., Conte-Devolx B., Régis J., Brue T.** Long-term of stereotactic radiosurgery in secretory pituitary adenomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2009). 94(9) 3400-3407.
- Castinetti F., Régis J., Dufour H., Brue T.** Role of stereotactic radiosurgery in the management of pituitary adenomas. *Nat Rev Endocrinol.* (2010) 6(4):214-23.
- Castinetti F., Régis J., Dufour H., Brue T.** Role of stereotactic radiosurgery in the management of pituitary adenomas. *Endocrinol.* 2010, (advance on line publication).
- Catania A.** Melanocortins. Multiple actions and therapeutical potencial. *Advances in experimental medicine and biology.* Vol. 681. Ed. Springer Science + business LLC. 2010.
- Chalus T, Combes A, Bedu AS, et al.** Ultrasonographic adrenal gland measurements in healthy Yorkshire Terriers and Labrador Retrievers. *Anat Histol Embryol* 2013; 42:57-64.
- Chang S., Main W., Martin D.P., Gibbs I.C., Heilbrun M.P.** An analysis of the accuracy of the Cyberknife: a robotic frameless stereotactic radiosurgical system. *Neurosurgery* (2003): 52(1). 140-7.
- Chanson P., Daujat F., Young J., Bellucci A., Kujas M., Doyon.D., Schaison G.** Normal pituitary hypertrophy as frequent cause of pituitary incidentaloma: A follow-up study. *J.Clin. Endocrinolo. Metab.* (2001). 86:3009-3015.
- Chapman P. S., Kelly D. F., Archer J., Brockman D. J., Neiger R.** Adrenal necrosis in a dog receiving trilostane for the treatment of hyperadrenocorticism. *J. of Small An. Pract.* (2004) 45, 307–310.
- Choi j., Kim H., Yoon J.** Ultrasonographic adrenal gland measurements in clinically normal small breed dogs and comparison with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Ve. Med. Sci.* (2011). 73(8): 985-989.

- Choi J.Y., Chang J.H., Ha Y., Park Y.G., Chung S.S.** Radiological and hormonal responses of functioning pituitary adenomas after Gamma knife radiosurgery. *Yonsey Med. J.* 2003. Vol. 44 (4):602-607.
- Church D.B.** Drugs used in the treatment of adrenal dysfunction. **En:** *Small animal clinical pharmacology*. Editores: JE Maddison, SW Page, D Church (2008) Ed: Saunders/Elsevier. Cap. 22.
- Churcher RK.** Hepatic carcinoid, hypercortisolism and hypokalaemia in a dog. *Aust Vet J.* (1999) 77(10):641-5.
- Clemente M., de Andrés P.J., Arenas C., Melián C., Morales M., Pérez-Alenza M.D.** Comparison of non-selective adrenocorticolysis with mitotane or trilostane for the treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *The Vet. Rec.* (2007). 15.
- Cross E., Moreland R., Wallack S.** Feline pituitary-dependent hyperadrenocorticism and insuline resistance due to a plurihormonal adenoma. *Topics in Comp. An. Med.* 27 (2012) 8-20.
- De Fornel P., Delisle F., Devauchelle P., Rosenberg D.** Effects of radiotherapy on pituitary corticotroph macrotumors in dogs: A retrospective study of 12 cases. *Can. Vet. J.* (2007) 48: 481-486.
- den Hertog E, Braakman JC, Teske E, Kooistra HS, Rijnberk A.** Results of non-selective adrenocorticolysis by o,p'-DDD in 129 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet Rec.* (1999) 144(1):12-7.
- Devitt CM, Cox RE, Hailey JJ.** Duration, complications, stress, and pain of open ovariohysterectomy versus a simple method of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* (2005) 15;227(6):921-7.
- Dos Santos AP., Biondo AW., Sisson D., Lopes SAT., Souza C., Solter P.** Comparative sequences of canine and feline vasopressine prohormones. *Comparative Clinical Pathol.* (2007) 16(3):173-179
- Dropcho EJ.** Neurotoxicity of radiation therapy. *Neurol. Clin.* (2010) 28: 217-34.
- Douglas J.P., Berry C.R., James S.** Ultrasonographic adrenal gland measurements in dogs without evidence of adrenal disease. *Vet. Rad. And Ultrasound* (1997). 38:124-130.
- Duesberg C.A., Feldman E.C., Nelson R.W., Bertoy E.H., Dublin A.B., Reid M.H.** Magnetic resonance imaging for diagnosis of pituitary macrotumors in dogs. *JAVMA.* (1995) 206(5): 657-662.
- Dunn AJ.** Cytokine activation of the PA axis. *Ann. N.Y. Acad. Sci* (2000) 917:608-17 Review.

- Dyce KM, Sackk WO, Wensing CJG.** The endocrine glands. In: Dyce KM, Sack WO, Wnsing eds. *CJG Textbook of Veterinary Anatomy*. 4th ed. Missouri, USA: WB Saunders, (2010). 216-222.
- Eastwood J. M., Elwood C. M. Hurley K.J.** Trilostane treatment of a dog with functional adrenocortical neoplásica. *J. of Small An. Pract.* (2003) 44, 126–131.
- Elliott DA, Nelson RW, Feldman EC, Neal LA.** Glycosylated hemoglobin concentrations in the blood of healthy dogs and dogs with naturally developing diabetes mellitus, pancreatic beta-cell neoplasia, hyperadrenocorticism, and anemia. *J Am Vet Med Assoc.* (1997) 15;211(6):723-7.
- Emami B, Lyman J, Brown A, Coia L, Goitein M, Munzenrider JE, Shank B, Solin LJ, Wesson M.** Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21(1): 109-122.
- Fehm HL, Smolnik R, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Born J.** The melanocortin melanocyte-stimulating hormone/adrenocorticotropin(4-10) decreases body fat in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* (2001) 86(3):1144-8.
- Feldman EC.** Evaluation of twice-daily lower-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *J. Am. Ve.t Med. Assoc.* (2011). 238:1441-1451.
- Feldman EC, Kass PH.** Trilostane dose versus body weight in the treatment of naturally occurring pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* (2012). 26:1078-1080.
- Feldman EC y Nelson RW, Reusch C, Scott-Moncrieff CR.** Canine and feline endocrinology and reproduction. Cap. Canine Hyperadrenocorticism. 4ª ed. Elsevier science. (2015).
- Feldman E.C., Nelson, R.W., Feldman, M.S.** Use of low- and high-dose dexamethasone test for distinguishing pituitary-dependent from adrenal tumor hyperadrenocorticism in dogs. *JAVMA* (1996): 209 (4). 772-775.
- Fleseriu M., Petersenn S.** Medical management of Cushing's disease: What is the future?. *Pituitary* (2012). 15: 330-341.
- Forrester SD, Troy GC, Dalton MN, Huffman JW, Holtzman G.** Retrospective evaluation of urinary tract infection in 42 dogs with hyperadrenocorticism or diabetes mellitus or both. *J Vet Intern Med.* (1999) 13(6):557-60.
- Fracassi F., Gandini G., Diana A., Preziosi R., van den Ingh T.S.G.A.M., Famigli-Bergamini P., Koositra H.S.** Acromegaly due to a somatotroph adenoma in a dog. *Domestic Animal Endocrinology* (2007). 32: 43-54.

- Fracassi F, Corradini S, Floriano D, et al.** Prognostic factors for survival in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism treated with trilostane. *Vet Rec* 2015; 176:49.
- Galac S., Buijtsels J.J.C.W.M., Kooistra H.S.** Urinary Corticoid : Creatinine ratios in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism during trilostane treatment. *J. Vet. Intern. Med.* (2009). 23:1214–1219.
- Galac S., Buijtsels J.J.C.W.M., Mol, J.A., Kooistra H.S.** Effects of trilostane on pituitary-adrenocortical and rennin-aldosterone axis in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *The Veterinary Journal* (2010). 183: 75-80.
- Galac S., Kars V.J., Voorhout G., Mol J.A., Kooistra H.S.** ACTH-independent hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog: a case report. *The Vet. J.* (2008). 177(1): 141-143.
- Galac S., Kooistra H.S., Voorhout G., van den Ingh T.S.G.A.M., Mol J.A., van den Berg G., Meij B.P.** Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. *Dom. An. Endoc.* (2005) 28:328-348.
- Galac S, Reusch CE, Kooistra HS, Rijnberk A. Adrenals.** En: **Rijnberk A, Kooistra HS, eds.** *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats*, 2nd ed. Hannover, Germany: Schlüterche (2010) 93-154.
- Gallelli M.F., Cabrera Blatter M.F., Castillo V.** A comparative study by age and gender of the pituitary adenoma and ACTH and  $\alpha$ -MSH secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Res. in Vet. Sci.* (2010) 88: 33-40.
- Ganz J.C.** Gamma knife radiosurgery and its possible relationship to malignancy: a review. *J. Neurosurg.* (2002) 97(5):644–652.
- Ganz J.C.** *Gamma knife Neurosurgery*. Ed. Springer-Verlag. Viena (2011)
- Garosi L, McConnell JE, Platt SR, Barone G, Baron JC, de Lahunta A, Schatzberg SJ.** Results of diagnostic investigations and long-term outcome of 33 dogs with brain infarction (2000-2004). *J Vet Intern Med.* (2005) Sep-Oct,19(5):725-31.
- Gewirtz G., Yalow R.S.** Ectopic production in carcinoma of the lung. *The J. Clin. Invest.* (1974). Vol. 53: 1022-1032.
- Gieger TL, Feldman EC, Wallack ST, Dank G.** Lymphoma as a model for chronic illness: effects on adrenocortical function testing. *J Vet Intern Med.* (2003) 17(2):154-7.
- Goosens M.M.C., Feldman E.C., Theon A.P., Koblik P.D.** Efficacy of cobalt 60 radiotherapy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *JAVMA* (1998). Vol. 212 (3): 374-376.



- Gough and Thomas.** Breed predisposition to disease in dogs and cats. Blackwell publishing. 2004.
- Granger N., Fornel P. de, Devauchelle P., Segond S., Delisle F., Rosenberg D.** Plasma pro-opiomelanocortin, pro-adrenocorticotropin hormone, and pituitary adenoma size in dogs with Cushing's disease. *J. Vet. Intern. Med.* (2005). 19:23–28.
- Graham J.P., Roberts G.D., Newell S.M.** Dynamic magnetic resonance imaging of the normal canine pituitary gland. *Vet. Rad. and Ultrasound* (2000). vol 41. (1): 35-40.
- Greco DS, Peterson ME, Davidson AP, Feldman EC, Komurek k.** Concurrente pituitary and adrenal tumors with hyperadrenocorticism: 17 cases (1978-1995). *J Am Vet Med Assoc.* (1999) 1;214(9):1349-53.
- Griessenauer CJ, Raborn J, Mortazavi MM, Tubbs RS, Cohen-Gadol AA.** Relationship between the pituitary stalk angle in prefixed, normal, and postfixed optic chiasmata: an anatomic study with microsurgical application. *Acta Neurochir* (Wien). 2014 156(1):147-51
- Grooters AM, Biller DS, Theisen SK, et al.** Ultrasonographic characteristics of the adrenal glands in dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism: Comparison with normal dogs. *J Vet Intern Med* 1996; 10:110-115.
- Halmi NS, Peterson ME, Coulurso GJ, Liotta AS, Krieger DT.** Pituitary intermediate lobe in dog: two cell types and high bioactive adrenocorticotropin content. *Science* (1981) 211:72-74.
- Hamann F., Kooistra, H.S., Mol, J.A., Gottschalk, S., Bartels, T., Rijnberk, A.** Pituitary function and morphology in two German shepherd dogs with congenital dwarfism. *The Vet. Rec.* (1999). 144: 644-646.
- Hanson JM, Kooistra HS, Mol JA, Teske E, Meij BP.** Plasma profiles of adrenocorticotrophic hormone, cortisol, alpha-melanocyte-stimulating hormone, and growth hormone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism before and after hypophysectomy. *J Endocrinol.* (2006) Sep,190(3):601-9.
- Hanson JM, Teske E, Voorhout G, Galac S, Kooistra HS, Meij BP.** Prognostic factors for outcome after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Neurosurg.* (2007) Oct,107(4):830-40.
- Hanson J.M., van't Hoofd M.M., Voorhout G., Teske E., Kooistra H.S., Meij B.P.** Efficacy of transsphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. of Vet. Intern. Med.* (2005) 19:687-694.

- Hara Y., Tagawa M., Masuda H., Sako T., Koyama H., Orima H., Nakamura S., Takahashi K., Sanno N., Teramoto A.** Transsphenoidal hypophysectomy for four dogs with pituitary ACTH-producing adenoma. *J. Vet. Med. Sci.* (2003) 65(7): 801-804.
- Hayashi M., Taira T., Chernov M., Fukuoka S., Liscak R., Ping Yu C., Ho R.T.K., Regis J., Katayama Y., Kawakami Y., Hori T.** Gamma knife surgery for cancer pain—pituitary gland—stalk ablation: a multicenter prospective protocol since 2002. *J. Neurosurg.* (2002). 97(5):433–437.
- Heany A.P., Fernando M., Young W.H., Melmed S.** Functional PPAR- $\gamma$  receptor is a novel therapeutic target for ACTH-secreting pituitary adenomas. *Nat. Med.* (2002). 8:1281-1287.
- Helm J.R., Mclauchlan G., Boden L.A., Frowde P.E., Collings A.J., Tebb A.J., Elwood C.M., Herrtage M.E., Parkin T.D.H., Ramsey I.K.** A comparison of factors that influence survival in dogs with adrenal-dependent hyperadrenocorticism treated with mitotane and trilostane. *J. Vet. Intern. Med.* (2011) 25: 251-260.
- Horeauf A., Reusch C.** Ultrasonographic evaluation of the adrenal glands in healthy dogs, dogs with Cushing's disease due to functional adrenal tumors and dogs with Addison's disease. *Vet. Rad. And Ultrasound.* (1996). 37: 488
- Hullinger RL.** The endocrine System. In **Evans HE. Ed.** *Miller's Anatomy of the Dog*. Philadelphia, USA: W.B. Saunders, (1993). 559-585.
- Hutzinger C., Friedman W., Bova F., Fox T., Bouchet L., Boeh L.** Trilogy imageguided stereotactic radiosurgery. *Med. Dosim.* (2007) 32(2): 121-33.
- Jagannathan J, Yen C, Pouratian N, Laws ER, Sheehan JP.** Stereotactic radiosurgery for pituitary adenomas: a comprehensive review of indications, techniques and long-term results using the Gamma Knife. *J. Neurooncol.* (2009) 92:345-56.
- John CD, Buckingham JC.** Cytokines: regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Curr Opin Pharmacol.* (2003) 3(1):78-84. Review.
- Joiner MC.** A simple alpha/beta-independent method to derive fully isoeffective schedules following changes in dose per fraction. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* (2004) 58(3):871-5.
- Kalapurakal, J.A., Silverman, C.L., Akhtar, N., Downes, B., Andrews, W., Laske, D.W., Thomas, P.R.M.** Acute hyperthermia following stereotactic radiosurgery for pituitary adenoma. *The Brit. J. of Rad.,* (1999) 72:1218-1221.

- Kane LA, Leinung MC, Scheithauer BW, Bergstralh EJ, Laws ER Jr, Groover RV, Kovacs K, Horvath E, Zimmerman D.** Pituitary adenomas in childhood and adolescence. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (1994) 79, 1135-1140.
- Kahn FM.** The Physics of Radiation Therapy. 4<sup>a</sup> ed. William & Wilkins, Baltimore, 2010.
- Kenefick S. J., Neiger R.** The effect of trilostane treatment on circulating thyroid hormone concentrations in dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism. *J. of Small An. Pract.*, (2008) Vol 49:139-143.
- Kent M.S., Bommarito D., Feldman E., Theon A.P.** Survival, neurologic response, and pronostic factors in dog with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *J. Vet. Med.* (2007) 21: 1027-1033.
- Kemppainen RJ, Sartin JL.** Evidence for episodic but not circadian activity in plasma concentrations of adrenocorticotropin, cortisol and thyroxine in dogs. *J. Endocrinol.* (1984). 103:219-223.
- Kemppainen RJ, Sartin JL.** Differential regulation of peptide release by the canine *pars distalis* and *pars intermedia*. *Front Horm Res* (1987)17:18–27.
- Kemppainen RJ, Zerbe CA, Sartin JL.** Regulation and secretion of proopiomelanocortin peptides from isolated perfused dog pituitary pars intermedia cells. *Endocrinology.* (1989) 124(5):2208-17.
- Kii S., Uzuka Y., Taura Y., Hayashi T., Inokuma H., Omishi T.** Absence of septum pellucidum in a clinically normal dog. *J. of Japan Vet. Med. Association* (1998) 51(7): 368-370.
- Kintzer PP, Peterson ME.** Mitotane treatment of 32 dogs with cortisol-secreting adrenocortical neoplasms. *J. Am. Ve. Med. Assoc.* (1994) 205(1):54-61.
- Kippenes H., Gavind P., Kraft S.L., Sande R.D., Tucker R.L.** Mensuration of the normal pituitary gland from magnetic resonance images in 96 dogs. *Vet. Rad. & Ultrasound.* (2001) Vol. 42(2): pp 130-133.
- Kipperman BS, Feldman EC, Dybdal NO, Nelson RW.** Pituitary tumor size, neurologic signs, and relation to endocrine test results in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 43 cases (1980-1990). *J Am Vet Med Assoc.* (1992) 201(5):762-7.
- Kleyerleber MA, McEntee MC, Farrelly J, Podgorsak M.** Completeness of reporting of radiation therapy planning, dose, and delivery in veterinary radiation oncology manuscripts from 2005 to 2010. *Vet. Rad. and ultrasound.* (2012) 53(2): 221-230.

- Kobayashi, T., Kida, Y., Mori, Y.** Gamma knife radiosurgery in the treatment of Cushing disease: long-term results. *J. Neurosurg.* (2002) 97 (5):422-428.
- Koenig J.L.** Pituitary gland: neuropeptides, neurotransmitters and Growth factors. *Toxicol. Pathol.* (1989). 17:256.
- Köning HE, Liebich HG.** Veterinary Anatomy of Domestic Animals, Textbook and colour atlas. 4ª edición. Ed. Schattauer. Stuttgart. 2009.
- Kontogeorgos G.** Classification and Pathology of pituitary tumors. *Endocrine.* (2005) vol 28, nº1, 27-35.
- Kooistra H.S., Galac S., Buijtels J.J.C.W.M., Meij B.P.** Endocrine diseases in animals. *Horm. Res.* (2009) ,71(1):144–147.
- Kooistra HS, Greven SH, Mol JA, Rijnberk A.** Pulsatile secretion of  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH) by the pars intermedia of the pituitary gland and the differential effects of dexamethason and haloperidol on the secretion of  $\alpha$ -MSH and adrenocorticotrophic hormone in dogs. *J. Endocrinol.* (1997 a), 152:113-121.
- Kooistra HS, Voorhout G., Mol J.A., Rijnberk A.** Correlation between impairment of glucocorticoid feedback and the size of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Endocrinol.* (1997) 152: 387-394.
- Kornienko VN, Pronin IN.** Diagnostic neuroradiology. Ed. Springer. Berlin. 2009
- Kuriashkin I.V., Losonsky J.M.** Contrast enhancement in magnetic resonance imaging using intravenous paramagnetic contrast media: a review- *Vet. Rad. and Ultrasound.* (2000) Vol. 41(1): 4-7.
- Kurie J.M.** The biological basis for the use of retinoids in cancer prevention and treatment. *Curr. Opin. Oncol.* (1999). 11:497-502.
- Larson D.A., Gutin P.H., Leibel S.A., Phillips T.L., Snedd P.K., Wara W.M.** Stereotaxic irradiation of brain tumors. *Cancer*, (1990). Vol. 65: 792-799.
- Larsson B.** Radiobiological Fundamentals in Radiosurgery. *Radiosurgery: Baselines and Trends.* Ed. Steiner L et al. Raven Press Ltd., New York (1992).
- Leber K.A., Bergloff J., Pendl G.** Dose-response tolerance of the visual pathways and cranial nerves of the cavernous sinus to stereotactic radiosurgery. *J. Neurosurg.* (1998) 88(1): 43-50.

- Lee W.M., Meij B.P., Bhatti S.F.M., Mol J.A., Rijnberk A., Kooistra H.S.** Pulsatile secretion pattern of growth hormone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Dom. An. Endocrinol.*, (2003), 24:59-68.
- Leigh E.J., Mackillop E., Robertson, I.D., Hudson, L.C.** Clinical anatomy of the canine brain using magnetic resonance imaging. *Vet. Rad. and Ultrasound*, (2008) vol 49(2),: 113-121.
- Leksell L.** The stereotaxic method and radiosurgery of the brain. *Acta Chirurgica Scandinavia*. (1951) 102:316-9.
- Leksell L., Larsson B, Anderson B, Rexed B, Sourander P, Mair W.** Lesions in the depth of the brain produced by a beam of high energy protons. *Acta radiologica* (1960)54(4): 251-64.
- Lester N.V., Hopkins A.L., Bova F.J., Friedman W.A., Buatti J.M., Meeks S.L., Chrisman C.L.** Radiosurgery using a stereotactic headframe system for irradiation of brain tumors in dogs. *JAVMA*, (2001). Vol. 219 (11): 1562-1567.
- Levy A.** Mitosis and apoptosis in the pituitary gland: tumour formation or hyperplasia? *Baillie's Clinical Endocrinology and Metabolism* (1999), Vol. 13(3): 353-365.
- Lien YH, Huang HP.** Use of ketoconazole to treat dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 48 cases (1994-2007). *J Am Vet Med Assoc.* (2008) 233(12):1896-901.
- Lipton JM, Catania A, Ichiyama T.** Marshaling the anti-inflammatory influence of the neuroimmunomodulator alpha-MSH. *News Physiol Sci* (2000) 15:192-195.
- Liscak R., Vladyka V., Simonová G., Vymazal J.** Gamma knife radiosurgery for endocrine-inactive pituitary adenomas. *Acta Neurochir.* (2007). 149:999-1006.
- Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain J, Leza JC, Moro MA, Portolés A.** Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición. Ed. Panamericana. Madrid. 2008.
- Love N.E., Fisher P., Hudson L.** The computed tomographic enhancement patterns of the normal canine pituitary gland. *Vet. Rad. and Ultrasound.* (2000) Vol 41(6): 507-510.
- Lloyd R.V., Kovacks K., Young W.F. Jr.** Pathology and genetics of endocrine organs. World Health Organization classification of tumors: Tumours of the endocrine organs. DeLellis R.A., Heitz P., Lloyd R.V. and Eng C. (eds). IARC press: Lyon. Francia.
- Lozano A, gildenberg P, Tasker R.** Ed. *Textbook of Stererotactic and Functional Neurosurgery*. Vol. 1. 2<sup>nd</sup> ed. Springer. Berlín, 2009.

- Lulich JP, Osborne CA, Thumchai R, Lekcharoensuk C, Ulrich LK, Koehler LA, Bird KA, Swanson LL, Nakagawa Y.** Epidemiology of canine calcium oxalate uroliths. Identifying risk factors.. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* (1999) 29(1):113-22. Review.
- Magallón Sebastián, R.** Prevención y tratamiento de la toxicidad en el SNC.
- Maghaine M, Genovese E, Bernasconi S, Binda S, Arico M.** Persistent high MR signal of the posterior pituitary gland in central diabetes insipidus. *Am J. Neuroradiology.* (1997)18:1749-52.
- Mahmoud-Ahmed, A, Suh, J.H.,** Radiation therapy for Cushing's disease: a review. *Pituitary* (2002), 5, 3. 175.
- Mantis P., Lamb C.R., , Witt A.L., Neiger R.** Changes in ultrasonographic appearance of adrenal glands treated with trilostane in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet. Rad. & Ultrasound,* (2003). Vol. 44 (6): 682-685.
- Mariani CL, Schubert TA, House RA, Wong MA, Hopkins AL, Barnes Heller HL, Milner RJ, Lester NV, Lurie DM, Rajon DA, Friedman WA, Bova FJ.** Frameless stereotactic radiosurgery for the treatment of primary intracranial tumours in dogs. *Vet Comp Oncol.* (2015) 13(4):409-23.
- Martín-Vaquero P., Da Costa R.C., Echandi R.L., Tosti C.L., Knopp M.V., Sammet S.** Magentic resonance imaging of the canine brain at 3T and 7T. *Vet. Rad. & Ultrasound.* (2011). Vol 52(1): 25-32.
- Martínez N.** Estudio de la respuesta clínica y efectos secundarios del tratamiento mediante radiocirugía con Gamma Knife de la neuralgia típica del trigémino. *Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid.* (2012).
- Martínez R., Bravo G, Burzaco J., Rey G.:** Pitutary tumors and Gamma Knife surgery. Clinical experience with more than two years of follow-up. *Stereotactic and Func Neurosurg.* ( 1998) 70 (1): 110-118
- Martínez Ruiz M., Gómez Bueno, O., Molina Rodríguez M.A., González Casado J., Gracia Bouthelier R.** Diagnóstico, tratamiento y evolución de la enfermedad de Cushing. *An. Pediatr.* (2003): 59(2), 183-186.
- Mauildin GN, Burk RL.** The use of diagnostic computerized tomography and radiation therapy in canine and feline hyperadrenocorticism. *Prob. Vet. Med.* (1990) 2:557-64.
- Mayer M.N., Treuil P.L.** Radiation therapy for pituitary tumors in the dog and cat. *Can. Vet. J.,* (2007).Vol. 48: 316-318.

- Mawby DI, Whittemore JC, and Fecteau KA.** Canine Pancreatic-Specific Lipase Concentrations in Clinically Healthy Dogs and Dogs with Naturally Occurring Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2014; 28:1244-1250.
- McDermott M.** Endocrinology secrets. 6<sup>a</sup> ed. (2014) Elsevier (China).
- McEntee MCA** survey of veterinary radiation facilities in the United States during 2001. *Vet Radiol Ultrasound*. (2004) 45(5) 476-9.
- Meij B.J.** Hypophysectomy as a treatment for canine and feline Cushing's disease. *Vet. Clin. of North Am.: Small An. Pract.*. (2001). Vol. 31 (5): 1015-1041.
- Meij B.J., Mol J.A., Bevers M.M., Rijnberk A.** Alterations in anterior pituitary function of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. of Endocrinol.* (1997) 154:505-512.
- Meij B.P., Mol J.A., Bevers M.M., Rijnberk A.** Residual pituitary function after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. of Endocrinol.* (1997) 155, 531-539.
- Meij B.P., Mol J.A., van den Ingh T.S.G, Bevers M.M.** Assessment of pituitary function after transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs. *Dom. An. Endocrinol.* (1997) Vol. 14(2):81-97, 1997.
- Meij B., Voorhout G., Rijnberk A.** Progress in transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs and cats. *Molecular and Cellular Endocrinology* (2002) Nov 29,197(1-2):89-96. Review.
- Meij B.P., Voorhout G., van den Ingh T.S.G.A.M., Hazelwinkel H.A.W., Teske E., Rijnberk A.** Results of transsphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet. Surg.* (1998) 27:246-261.
- Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM, et al.** Transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs: Evaluation of a microsurgical technique. *Vet Surg* 1997;26:295–309.
- Melián C, M. Pérez-Alenza, D, Peterson ME.** Hyperadrenocorticism in dogs, In: Ettinger SJ (ed): *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat (Seventh Edition)*. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2010,1816-1840.
- Milano MT, Usuki KY, Walter KA, Clark D, Schell MC.** Stereotactic radiosurgery and hypofractionated stereotactic radiotherapy: normal tissue dose constraints of the central nervous system. *Cancer Treat Rev.* (2011) 37(7):567-78. Review.

- Miller J.W., Crapo L.** The medical treatment of Cushing's syndrome. *Endocrine Reviews* (2006) Vol. 14 (4): 443-458.
- Minniti G., Brada M.** Radiotherapy and radiosurgery for Cushing's disease. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* (2007). 51-58.
- Mitchell CW.** The imaging diagnosis of pulmonary thromboembolism. *Can Vet J.* (2009) Feb,50(2):199-202.
- Monroe WE1, Panciera DL, Zimmerman KL.** Concentrations of noncortisol adrenal steroids in response to ACTH in dogs with adrenal-dependent hyperadrenocorticism, pituitary-dependent hyperadrenocorticism, and nonadrenal illness. *J Vet Intern Med.* (2012) 26(4):945-52.
- Moore AS , O'Brien DP.** Canine pituitary macrotumors. *Compendium* (2008). 33-41.
- Moore AS.** Radiation therapy for the treatment of tumours in small companion animals. *Vet J.* 2002 Nov;164(3):176-87. Review.
- Morandi F., Mays J.L., Newman S.J., Adams W.H.** Imaging diagnosis-bilateral adrenal adenomas and myelolipomas in a dog. *Vet. Rad. and Ultrasound.* (2007) 48(3): 246-249.
- Mormede, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., Manteca, X., Manteuffel, G., Prunet, P., van Reenen, C.G., Richard, S., Vissier, I.** Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology and Behavior* (2007). 92: 312-339.
- Muller EE, Locatelli V, Cocchi D.** Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Physiological reviews.* (1999) 79:511-607.
- Neiger R., Ramsey I.K.** Trilostane therapy of canine hyperadrenocorticism. *ACVIM* 2002.
- Neiger R, Ramsey I, O'Connor J, et al.** Trilostane treatment of 78 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet Rec* (2002).150:799-804.
- Nieman, L.K.,** Medical Therapy of Cushing's disease. *Pituitary* ( 2002). 5: 77-82.
- Nishioka H., Hirano, A., Haraoka, J., Nakajima, N.** Histological changes in the pituitary gland and adenomas following radiotherapy. *Neuropath.,* (2002). 22: 19-25.
- Nishioka H., Inoshita N., Sano T., Fukuhara N., , Yamada S.** Correlation between histological subtypes and MRI findings in clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *Endocr Pathol* (2012) 23:151–156.



- Northrup NC, Etue SM, Ruslander DM, Rassnick KM, Hutto DL, Bengtson A, Rand W, Moore AS.** Retrospective study of orthovoltage radiation therapy for nasal tumors in 42 dogs. *J Vet Intern Med.* (2001) 15(3):183-9.
- O'Brien D.M.A.** Morphology of the adrenal cortex and medulla. In: Becker KL. *Principles and practice of endocrinology and metabolism.* 3rd ed. Philadelphia, USA:Williams and Wilkins, (2001). 698-714.
- Ortega T, Feldman EC, Nelson RW, et al.** Systemic arterial blood pressure and urine protein/creatinine ratio in dogs with hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209:1724-1729.
- Osborn A.** Diagnostic imaging. Brain. 1ª ed. Ed. Amirsys Inc., Salt Lake City, Utah. 2004.
- Ovalle W, Nahirmey PC.** Netter's Essential Histology. Ed. Elsevier. Philadelphia. 2013.
- Parry N. M. A.** Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. *Companion Animal.* (2012) Vol. 7: 1-4.
- Pan L., Zhang N., Wang B., Xu W.** Pituitary adenomas: the effect of gamma knife radiosurgery on tumor growth and endocrinopathies. *Stereotactic and Functional Neurosurgery.* (1998). Vol. 70(1) 119-26.
- Peirce VE, Williams DL.** Reduced tear production in 50 dogs with endocrine disease (Abstrad). *In proceedings of British Small Animal Veterinary Association Congress.* Birmingham. Reino Unido (2004) 517.
- Penninck D., d'Anjou MA.** Atlas de ecografía en pequeños animales. Ed. Multimédica Ediciones Veterinarias. Barcelona. 2010.
- Peck W, Dillon W.P., Norman D.** High resolution MR imaging of pituitary adenomas at 1.5T: experience with Cushing's disease. *Am. J. of Roetgenol.* (1989) 152: 145-151.
- Pérez-Alenza, M.D., Arenas, C., López, M.L., Melián, C.** Long-term efficacy of trilostane administered twice daily in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Am. Animal Hosp. Assoc.* (2006) 42: 269-276.
- Peterson M.E.** Medical treatment of canine pituitary-dependent hyperadrenocorticism (Cushing's disease). *Vet. Clin. of North Am.: Small An. Prac.* (2001). Vol. 31 (5) 1005-1013.
- Peterson M.E.** Diagnosis of hiperadrenocorticism in dogs. *Clin. Tech. in Small An. Pract.* (2007). Feb 22(1):2-11. Review. .
- Peterson ME, Krieger DT, Drucker WD, Halmi NS.** Immunocytochemical study of the hypophysis of 25 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Acta Endocrinol* (1982)101:15-24.

- Peterson ME, Orth DN, Halmi NS, Zielinski AC, Davis DR, Chavez FT., Drucker WD.** Plasma immunoreactive proopiomelanocortin peptides and cortisol in normal dogs and dogs with Addison's disease and Cushing's syndrome: basal concentrations. *Endocrinology* (1986) 119:720–30.
- Picard C., Olivier A. Bertrand G.** The first human stereotaxic apparatus. The contribution of Aubrey Mussen to the field of stereotaxis. *J. Neurosurg.* (1983) 59: 673-676.
- Pivonello R., Ferone D., de Herder W.W., de Krijger R.R., Waaijer M., Mooij D.M., van Koetsveld P.M., Barreca A., de Caro M.L., Lombardi G., Colao A., Iambers S.W., Hofland L.J.** Dopamine receptor expression and function in human normal adrenal gland and adrenal tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2004). 89:4493-4502.
- Podgorsak EB.** Radiation oncology physics. A handbook for teachers and students. International Atomic Energy Agency. Vienna. (2005). 125-160.
- Pollard R.E., Reilly C.M., Uerling M.R., Wood F.D., Feldman E.C.** Cross-sectional imaging characteristics of pituitary adenomas, invasive adenomas and adenocarcinomas in dogs: 33 cases (1988-2006). *J. Vet. Intern. Med.* (2010) 24: 160-165.
- Prummel MF, Brokken LJ, Wiersinga WM.** Ultrashort-loop feedback control of thyrotropin secretion. *Thyroid* (2004) 14:825-829.
- Puente S.H.** Pituitary carcinoma in an Airedale terrier. *Can. Vet. J.* (2003) 44:240-242.
- Racine M.S., Barkan, A. L.** Medical management of growth hormone-secreting pituitary adenomas. *Pituitary*, (2002) 5 (2): 67-76.
- Raffin-Sanson M.L., Keyzer Y., Bertagna X.** Proopiomelanocortin, a polypeptide precursor with multiple functions: from physiology to pathological conditions. *European Journal of Endocrinology* (2003) 149: 79-90.
- Raffin-Sanson ML, Massias JF, Dumont C, Raux-Demay MC, Proeschel MF, Luton JP.** High plasma proopiomelanocortin in aggressive adrenocorticotropin-secreting tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (1996) 81: 4272-77.
- Ramsey IK** Trilostane in dogs. *Vet. Clin. Small. Anim.* (2010). 40:269-283.
- Ramsey IK, Richardson J, Lenard Z, Tebb AJ, Irwin PJ.** Persistent isolated hypocortisolism following brief treatment with trilostane. *Aust. Vet. J.* (2008). 86:491-495.

- Ramsey IK, Tebb A, Harris E, et al.** Hyperparathyroidism in dogs with hyperadrenocorticism. *J Small Anim Pract* 2005; 46:531-536.
- Reichlin S.** Neuroendocrinology. In: *Williams textbook of endocrinology*. Wilson JD, Foster DW, eds. 8th ed. Philadelphia, USA: WB Saunders, 1992:135-219.
- Reine N.J.** Medical management of pituitary-dependent hyperadrenocorticism: mitotane versus trilostane. *Clin. Tech. in Small An. Pract.* 2007. 22(1): 18-25.
- Reul JM, de Kloet ER, van Sluijs FJ, Rijnberk A, Rothuizen J.** Binding characteristics of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in dog brain and pituitary. *Endocrinology*. (1990) 127(2):907-15.
- Reusch CE.** Hyperadrenocorticism. In Ettinger SE and Feldman EC (eds): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 6th Ed. Saunders, Philadelphia, 2005: 1592-1612.
- Reusch C.E., Felmand, E.C.** Hyperadrenocorticism due to adrenocortical neoplasia. *J. Int. Med.* (1991). 5-3
- Reusch C.E., Steffen T., Hoerauf A.** The efficacy of L-Deprenyl in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 1999, 13: 291-301.
- Rijnberk A, Kooistra HS.** Clinical endocrinology of dogs and cats. 2<sup>nd</sup>. Ed. Editorial Schlütersche. Hannover. Alemania. 2010.
- Rijnberk A., Kooistra H.S., Mol J.A.** Endocrine diseases in dogs and cats: Similarities and differences with endocrine diseases in humans. *Growth Hormone and IGF Research* (2003). 13: 158-164.
- Rijnberk A., Mol JA, Rothuizen J, Bevers MM, Middleton DJ.** Circulating proopiomelanocortin-derived peptides in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Front. Horm. Res.* (1987) 17:48-60.
- Rijnberk A., Mol JA, Kwant MM, Croughs RJM.** Effects of bromocriptine on corticotrophin, melanotrophin and corticosteroid secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Endocrinol.* (1988) 118:271-78.
- Robertson I.** Optimal magnetic resonance imaging of the brain. *Vet. Rad. and Ultrasound*. Vol. 52, Nº1, sup. 1, 2011: 515-522.
- Rodríguez S.S., Castro M.G., Brown O.A., Goya R.G., Console G.M.** Gene therapy for the treatment of pituitary tumors. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* (2009). July 1: 4(4): 359-370.

- Ruckstuhl NS, Nett CS, Reusch CE.** Results of clinical examinations, laboratory tests, and ultrasonography in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism treated with trilostane. *Am. J. Vet. Res.* (2002). 63:506-512.
- Safarty D, Carrillo JM, Peterson ME.** Neurologic, endocrinologic and pathologic findings associated with large pituitary tumors in dogs: eight cases (1976-1984). *J. of Am. Vet. Med. Assoc.* (1988) 193: 854-856.
- Sato J., Sato R., Kinai M., Tomiwaza N., Osawa T., Nakada K., Yano A., Goryo M., Naito Y.** Pituitary chromophobe carcinoma with a low level of serum gonadotropin and aspermatogenesis in a dog. *J. Vet. Med. Sci.* (2001). 63(2):183-185.
- Schwarz T y Saunders J.** *Veterinary Computed tomography*. Editorial Wiley-Blackwell. Oxford. 2011
- Senovilla L, Nuñez L, Villalobos C, García-Sancho J.** Rapid changes in anterior pituitary cell phenotypes in male and female mice after acute cold stress. *Endocrinol.* (2008) 149: 2159-2167.
- Sereg M., Töke J., Patócs A., Varga I., Igaz P., Szűcs N., Horányi J., Pusztai P., Czirjak E., Gláz E., Rácz K., Tóth M.** Diagnostic performance of salivary cortisol and serum osteocalcin measurement in patients with overt and subclinical Cushing's syndrome. *Steroids* (2011). 76: 38-42.
- Shimon I., Melmed S.** Management of pituitary tumors. *Ann. Intern. Med.* (1998) 129:472-483.
- Shiel R.E., Acke E., Puggioni A., Cassidy J.P., Mooney C.T.** Tertiary hypothyroidism in a dog. *Irish Vet. J.* (2007) Vol. 60 N°2, 88-93.
- Sieber-Ruckstuhl N.S., Boretti F.S., Wenger M., Maser-Gluth C., Reusch C.E.** Serum concentration of cortisol and cortisone in healthy dogs and dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism treated with trilostane. *Vet. Rec* (2008) 163:477-481.
- Sieber-Ruckstuhl N.S., Boretti F.S., Wenger M., Maser-Gluth C., Reusch C.E.** A Cortisol, aldosterone, cortisol precursor, androgen and endogenous ACTH concentrations in dogs with pituitary-dependant hyperadrenocorticism treated with trilostane. *Domestic Animal Endocrinology* (2006) 31:63–75.
- Smets P.M., Lefebvre H.P., Meij B.P., Croubels S., Meyer E., Van de Maele I., Daminet S.** Long-term follow-up of renal function in dogs after treatment for ACTH-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* (2012). 26:565-574.
- Snell R.S.** *Neuroanatomía clínica*. 6ª edición. Ed. Panamericana. Madrid. 2001.

- Spiegel, EA, Wycis HT, Marks M, Lee A:** Stereotaxis apparatus for operations on the human brain. *Science* (1947) 106: 349-350.
- Swords F.M., Monson J.P., Besser G.M., Chew S.L., Drake W.M., Grossman A.B., Plowman P.N.** Gamma knife radiosurgery: a safe and effective salvage treatment for pituitary tumours not controlled despite conventional radiotherapy. *European J. of Endocrinol.* 2009. 161, 819-828.
- Tams TR.** Manual de gastroenterología en pequeños animales 2ª ed. Inter médica. Buenos aires (2004).
- Taoda T., Hara Y., Masuda H., Teshima T., Nezu Y., Teramoto A., Orima H., Okano S., Tagawa M.** Magnetic resonance imaging assessment of pituitary posterior lobe displacement in dogs with pituitary-dependent hiperadrenocorticism. *J. Vet. Med. Sci.* 2011, 73(6):725-731.
- Tanaka S.** Comparative aspects of intracellular proteolytic processing of peptide hormone precursors: studies of proopiomelanocortine processing . *Zoological Science.* (2003) 20:1183-98.
- Terada T., Kovacks K., Stefaneanu L., Hovarth E.** Incidence, Pathology, and Recurrence of Pituitary Adenomas: Study of 647 Unselected Surgical Cases. *Endocri. Pathol.* (1995) 6, 301-310.
- Teske E, Rothuizen J, de Bruijne JJ, Rijnberk A.** Corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme in the diagnosis of canine hypercorticism. *Vet Rec.* (1989) 1;125(1):12-4.
- Teshima T., Hara Y., Taoda T., Koyama H., Takahashi K., Nezu Y., Harada Y., Yogo T., Nishida K., Osamura R.Y., Teramoto A., Tagawa M.N.** Cushing's disease complicated with thrombosis in a dog. *J. Vet. Med. Sci.* 2008. 70(5): 487-491.
- Teshima T., Hara Y., Taoda T., Teramoto A., Tagawa M.** Central Diabetes insipidus after transesphenoidal surgery in dogs with Cushing's disease. *J.Vet. Med. Sci.* 2011, 73(1):33-39.
- Teshima T, Matsumoto H, Kumagai T, et al.** Expression of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms in canine adrenal glands treated with trilostane. *The Veterinary Journal* 2014; 200:452-455.
- Theon A.P., Feldman E.C.** Megavoltage irradiation of pituitary macrotumours in dogs with neurological signs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1998, 15, 213 (2):225-231.
- Thuróczy J, van Sluijs FJ, Kooistra HS, Voorhout G, Mol JA, van der Linde-Sipman JS, Rijnberk A.** Multiple endocrine neoplasias in a dog: corticotrophic tumour, bilateral adrenocortical tumours, and pheochromocytoma. *Vet Q.* (1998) 20(2):56-61.

- Van Rijn S.J., Gremeaux L., Riemers F.M., Brinkhof B., Vankelecom H., Penning L.C., Meij B.P.** Identification and characterization of side population cells in the canine pituitary gland. *The Veterinary Journal* (2012). 192: 476-482.
- Van der Vlugt-Meijer R.H., Mij B.P., Voorhout G.** Dynamic helical computed tomography of the pituitary gland in healthy dogs. *Vet. Rad. and Ultrasound*. Vol 48, Nº 2, 2007: 118-124.
- Van der Vlugt-Meijer R.H., Voorhout G., Mij B.P.** Imaging of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Molecular and Cellular Endocrinology* 197 (2002) 81-87.
- Van Vonderen IK, Kooistra HS, Rijnberk A.** Influence of veterinary care on the urinary corticoid:creatinine ratio in dogs. *J Vet Intern Med.* (1998) 12(6):431-5.
- Vaughan MA, Feldman EC, Hoar BR, Nelson R.W.** Evaluation of twice-daily, low-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (2008). 232:1321-1328.
- Veldman RG, Frolich M, Pincus SM, Vedhuis JD, Roelfsema F.** Growth hormone and prolactin are secreted more irregularly in patients with Cushing disease. *Clinical Endocrinology.* (2000) 52:625-632.
- Vilas Calveras, F.** Radiocirugía estereotáxica. Revisión de indicaciones y limitaciones. *Neurología*, 2001. 16: 74-79.
- Wan H., Chihiro O., Yuan S.** MASEP gamma knife radiosurgery for secretory pituitary adenomas: experience in 347 consecutive cases. *J. of Experimental and Clin. Cancer Res.* 2009, 28:36. 1-9.
- Wenger M, Sieber-Ruckstuhl N.S, Muller C, Reusch C.E.** Effect of trilostane on serum concentrations of aldosterone, cortisol, and potassium in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Am. J. Vet. Res.* (2004). 65:1245-1250.
- Wilson SM, Feldman EC.** Diagnostic value of the steroid induced isoenzyme of alkaline phosphatase in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 1992; 28:245-250.
- Yamada S., Vidal S., Sano T., Hovarth E., Kovacs K.** Effect of Gamma knife radiosurgery on a pituitary gonadotroph adenoma: a histologic, immunocytochemical and electron microscopic study. *Pituitary.* 2003. 6:53-58.
- Yamaguchi Y., Hearing V.** Physiological factors that regulate skin pigmentation. *Biofactors* (2009). 35(2): 193-199.

**Yeung CM., Chan C.B., Leung P.S., Cheng C.H.K.** Cells of the anterior pituitary. *The Int. J. of Biochem. and Cell. Biol.* 2006, 38: 1441-1449.

**Young WF.** The Netter Collection of Medical Illustrations. (Endocrine system) Vol. 2. 2<sup>nd</sup> Edition. Ed. Elsevier. Philadelphia. 2011

**Zhu M., Maeda M., Lee G.J., Yuh W.T.C.** Sellar lesions. Stark D.D. and Bradley Jr. Eds. Magnetic Resonance Imaging. 3<sup>rd</sup>. edition. St. Louis: Mosby.(1999) 1225-1230.

## Anexo

---





## ANEXO I

Estimado cliente,

Su mascota ha sido aceptada para participar en el ensayo clínico, aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Complutense de Madrid, consistente en el tratamiento de Hiperadrenocorticismismo hipofisario (Síndrome de Cushing) mediante radiocirugía con Gamma-knife.

Una vez su mascota es admitida en el estudio contraemos una serie de compromisos que a continuación le detallamos.

Usted asume:

- Acudir periódicamente a nuestra consulta para la revisión de su mascota, una semana después del tratamiento y posteriormente mensualmente hasta que pase a ser trimestralmente, para controlar y evaluar la evolución del proceso.
- El coste de la resonancia magnética necesaria para planificar el tratamiento y de la anestesia imprescindible para realizarla, así como el coste de la resonancia de revisión que se realiza al cumplir el año desde que se realizó el procedimiento. Dicho coste es de 700 € por cada uno de los 2 procedimientos.
- El coste de la analítica realizada en las revisiones posteriores, así como otras pruebas diagnósticas que puedan ser necesarias y que no dependan de nuestra consulta (ecografía, etc)
- En caso de producirse el fallecimiento de su mascota, el compromiso de permitirnos realizar la necropsia, con la toma de muestras necesaria. Posteriormente, si usted lo desea, el cuerpo le será entregado de nuevo.

Nuestro compromiso consiste en:

Asumir el coste del procedimiento de radiocirugía, de aproximadamente 9000 €.  
Asumir, durante el primer año, las consultas de revisión y el coste de un tratamiento adicional con trilostano, si este fuera necesario.

Enteradas ambas partes, lo firmo en Madrid, a .....de .....de 2007.

Fdo.:

D.N.I.

## ANEXO II

### HOSPITAL CLÍNICO VETERINARIO

#### CONSENTIMIENTO ANESTÉSICO INFORMADO

Según la ley general de sanidad acerca del consentimiento anestésico informado, le informamos sobre los siguientes puntos:

Para la realización de distintas exploraciones como a la que va a ser sometida su mascota (resonancia magnética y radiocirugía), es necesario mantenerla en una absoluta inmovilidad por lo que se le va a administrar una anestesia general. Durante dicha actuación va a estar controlado/a por un veterinario anestesista que valorará a través de diferentes sistemas de monitorización, sus requerimientos anestésicos y la respuesta de su organismo a los fármacos administrados y al procedimiento en general.

Cualquier técnica anestésica conlleva riesgos. La probabilidad de una complicación anestésica es del 2% y la mortalidad de causa exclusivamente anestésica es del 10 por 10.000.

#### RIESGOS MÁS IMPORTANTES DURANTE LA ANESTESIA

1. Dificultades respiratorias moderadas o severas. Su riesgo es mayor en enfermos con afectación pulmonar, obesidad, braquicéfalos, estenosis de tráquea.
2. Afectación de las cuerdas vocales y lesiones oculares, pasajeras en su gran mayoría.
3. Reacciones alérgicas o anafilácticas debido a algunos de los fármacos administrados, aún sin existir antecedentes alérgicos conocidos.
4. Nauseas, vómitos y dificultad para orinar en el postoperatorio.
5. Reacciones secundarias no previstas por cualquiera de los fármacos administrados, con posible repercusión cardiaca, pulmonar, hepática, renal, y/o del sistema nervioso. Aunque son más probables en pacientes con afectación previa de dichos órganos, no se excluyen en animales sanos.
6. Reacción febril aguda y severa de causa no infecciosa.
7. Complicaciones cardiovasculares imprevisibles. Este riesgo es mayor en pacientes con enfermedades cardiacas previas, y/o edad avanzada.
8. Lesión nerviosa postural y dolores musculares postoperatorios.
9. Flebitis, troboflebitis.

Dichos riesgos están relacionados con el estado de salud de cada paciente en particular.

**CONSENTIMIENTO**

Reconozco que he leído y entendido esta información y que he podido recabar cualquier aclaración pertinente del personal facultativo.

Por el presente documento autorizo la administración de anestesia a mi macota, cuyo nombre es:  
, por la técnica que se considere más adecuada al facultativo designado para la misma.

Madrid, a      de      de

Fdo.:

Nombre y Apellidos

D.N.I.:

### **CONSENTIMIENTO PARA EL PROCEDIMIENTO DE RESONANCIA MAGNÉTICA Y RADIOCIRUGÍA**

ALGUNOS OBJETOS PUEDEN INTERFERIR CON LA EXPLORACIÓN MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA. ES IMPORTANTE SABER QUE EL CHIP DE IDENTIFICACIÓN CANINA QUE LLEVA SU PERRO SE DESACTIVARÁ CON EL CAMPO MAGNÉTICO, Y QUE LEA CON DETENIMIENTO Y CONTESTE LAS PREGUNTAS SIGUIENTES. DE SUS RESPUESTAS PODREMOS ESTABLECER SI EXISTE ALGÚN INCONVENIENTE LA EXPLORACIÓN QUE SE SOLICITA.

¿Ha sido su perro operado alguna vez?

¿De qué?

¿Porta su mascota algún material metálico internamente?

Perdigones

Grapas quirúrgicas

Material de osteosíntesis

¿Está identificado mediante tatuaje?

¿Ha estado su perro en ambientes donde se produzcan virutas metálicas?

¿le han inyectado alguna vez un contraste?

¿Tiene su mascota antecedentes alérgicos?

Durante el estudio es necesario inyectarle contraste para obtener mayor información diagnóstica. No se han descrito reacciones adversas al contraste que se inyecta (gadolinio) en pequeños animales; en medicina humana se han descrito excepcionalmente reacciones de diferentes tipos:

Leves: náuseas, vómitos, picores, las cuales no necesitan tratamiento alguno o se corrigen fácilmente con la medicación adecuada.

Graves: necesitan de un tratamiento más complejo, y entre ellas se incluyen: dificultad respiratoria, arritmia cardíaca, convulsiones, insuficiencia renal o pérdida de conciencia.

Muy graves: excepcionalmente (más descrito en humana y con contrastes yodados con una incidencia del 0.001-0.0007%) de fallecimiento.

Actualmente no existe una prueba fiable que permita conocer en quién se puede producir una reacción.

### **RADIOCIRUGÍA**

DURANTE ESTE PROCEDIMIENTO SU MASCOTA PERMANECERÁ ANESTESIADA PARA MANETENERLA INMÓVIL. APLICÁNDOSELE RADIACIÓN EN LA ZONA TUMORAL, EXISTIENDO EL RIESGO DE UN POSIBLE DÉFICIT HORMONAL POSTERIORMENTE AL TRATAMIENTO EL CUAL PUEDE SER CORREGIDO MEDIANTE UN TRATAMIENTO POSTERIOR.

DEBIDO A LA PROXIMIDAD DE LAS VÍAS ÓPTICAS CON RESPECTO A LA GLÁNDULA HIPÓFISIS, Y AUNQUE EL MÉTODO ES BASTANTE SEGURO Y EXHAUSTIVO, EXISTE LA POSIBILIDAD DE RESULTAR UNA DEFICIENCIA ÓPTICA POSTERIOR COMO CONSECUENCIA DEL TRATAMIENTO.

### **CONSENTIMIENTO**

Reconozco que he leído y entendido esta información y que he podido recabar cualquier aclaración pertinente del personal facultativo.

Por el presente documento autorizo a realizar dicho procedimiento a mi mascota.

Madrid, a        de        de

Fdo.:

Nombre y Apellidos

D.N.I.:

## ANEXO III

## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	2D
Coil Configuration	HEAD	Pulse Sequence	SPGR
Plane	SAGITTAL	Imaging Options	EDR, Fast
Series Description	*SAG. LOC	Acceleration Factor	1.00
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
Flip Angle	90	FOV	25.0
TE	Min Full	Slice Thickness	5.0
Number of Echoes	1	Slice Spacing	1.0
TR	190.0		
Receiver Bandwidth	25.00		
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	256
		Phase	128
		Freq DIR	S/I
		NEX	1.00
		Phase FOV	1.00
		Auto Shim	Auto
		Phase Correction	No
GATING/TRIGGER		FMRI	
Auto Trigger Type	Off	PSD Trigger	Internal
		Slice Order	Interleaved
		View Order	Bottom/Up
		# of Repetitions REST	0
		# of Repetitions ACTIVE	0
MULTI-PHASE		SAT	
# of Acquisition	0	SAT Location	1
Seperate Series	0	Tag Type	None
Mask Phase	0		
Mask Pause	0		
ASSET		TRICKS	
Slice Acceleration Factor	1.00	Pause On/Off	On
Phase Acceleration Factor	1.00	Auto Subtract	0
		Auto SCIC	Off
CONTRAST		MULTI-STATION	
Contrast Yes/No	No	Number of Stations	0
		Station Number	0

## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	3D
Coil Configuration	HEAD	Pulse Sequence	SPGR
Plane	AXIAL	Imaging Options	EDR, Fast, ZIP2
Series Description	*AXIAL 3D SPGR		
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
Flip Angle	20	FOV	29.0
TE	Min Full	Slice Thickness	2.0
Number of Echoes	1	Location per Slab	128
Receiver Bandwidth	31.25	Overlap Locations	0
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	320
		Phase	224
		Freq DIR	A/P
		NEX	3.00
		Phase FOV	1.00
		Auto Shim	Auto
		Phase Correction	No
GATING/TRIGGER		USER CVS	
Auto Trigger Type	Off	User CV6	1.00
		User CV23	100.00
MULTI-PHASE		SAT	
Seperate Series	0	Tag Type	None
Mask Phase	0		
Mask Pause	0		
ASSET		TRICKS	
Slice Acceleration Factor	1.00	Pause On/Off	On
Phase Acceleration Factor	1.00	Auto Subtract	0
		Auto SCIC	Off
CONTRAST		MULTI-STATION	
Contrast Yes/No	No	Number of Stations	0
		Station Number	0

\*AXIAL 3D SPGR

\*AXIAL 3D SPGR



## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	2D
Coil Configuration	HEAD	Pulse Sequence	FRFSE-XL
Plane	AXIAL	Imaging Options	FC, TRF, Fast, ZIP512, FR
Series Description	AXIAL T2 FRFSE		
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
TE	85.0	FOV	26.0
Number of Echoes	1	Slice Thickness	2.4
TR	5000.0	Slice Spacing	0.3
Echo Train Length	24		
Receiver Bandwidth	41.67		
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	384
		Phase	224
		Freq DIR	A/P
		NEX	3.00
		# of Acq. Before Pause	0
		Phase FOV	1.00
		Auto Shim	Auto
		Phase Correction	No
		Flow Direction	Slice
		Compensation	
GATING/TRIGGER		USER CVS	
Auto Trigger Type	Off	User CV7	1.00
		User CV20	0.0
		User CV22	1.00
MULTI-PHASE		SAT	
Seperate Series	0	Tag Type	None
Mask Phase	0		
Mask Pause	0		
ASSET		TRICKS	
Slice Acceleration Factor	1.00	Pause On/Off	On
Phase Acceleration Factor	1.00	Auto Subtract	0
		Auto SCIC	Off
CONTRAST		MULTI-STATION	
Contrast Yes/No	No	Number of Stations	0
		Station Number	0

## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	2D
Coil Configuration	HEAD	Pulse Sequence	SPGR
Plane	AXIAL	Imaging Options	NPW, EDR, Fast
Series Description	DINAMICO FSPGR		
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
Flip Angle	45	FOV	22.0
TE	Min Full	Slice Thickness	2.4
Number of Echoes	1	Slice Spacing	0.2
TR	51.0		
Receiver Bandwidth	62.50		
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	256
		Phase	224
		Freq DIR	A/P
		NEX	2.00
		Auto Shim	Auto
		Phase Correction	No
GATING/TRIGGER		MULTI-PHASE	
Auto Trigger Type	Off	Seperate Series	0
		Mask Phase	0
		Mask Pause	0
SAT		ASSET	
SAT Location	I	Slice Acceleration Factor	1.00
Tag Type	None	Phase Acceleration Factor	1.00
TRICKS		CONTRAST	
Pause On/Off	On	Contrast Yes/No	Yes
Auto Subtract	0		
Auto SCIC	Off		
MULTI-STATION			
Number of Stations	0		
Station Number	0		

DINAMICO FSPGR

DINAMICO FSPGR

## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	3D
Coil Configuration	HEAD	Pulse Sequence	SPGR
Plane	AXIAL	Imaging Options	EDR, Fast, ZIP2
Series Description	+C *AXIAL 3D SPGR		
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
Flip Angle	20	FOV	29.0
TE	Min Full	Slice Thickness	2.0
Number of Echoes	1	Location per Slab	128
Receiver Bandwidth	31.25	Overlap Locations	0
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	320
		Phase	256
		Freq DIR	A/P
		NEX	2.00
		Phase FOV	1.00
		Auto Shim	Auto
		Phase Correction	No
GATING/TRIGGER		USER CVS	
Auto Trigger Type	Off	User CV4	8.00
		User CV6	1.00
		User CV23	100.00
MULTI-PHASE		SAT	
Seperate Series	0	Tag Type	None
Mask Phase	0		
Mask Pause	0		
ASSET		TRICKS	
Slice Acceleration Factor	1.00	Pause On/Off	On
Phase Acceleration Factor	1.00	Auto Subtract	0
		Auto SCIC	Off
CONTRAST		MULTI-STATION	
Contrast Yes/No	Yes	Number of Stations	0
		Station Number	0

## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	2D
Coil Configuration	HEAD	Pulse Sequence	FRFSE-XL
Plane	AXIAL	Imaging Options	FC, TRF, Fast, ZIP512, FR
Series Description	AXIAL T2 FRFSE		
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
TE	85.0	FOV	24.0
Number of Echoes	1	Slice Thickness	2.4
TR	5000.0	Slice Spacing	0.3
Echo Train Length	24		
Receiver Bandwidth	41.67		
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	384
		Phase	224
		Freq DIR	A/P
		NEX	3.00
		# of Acq. Before Pause	0
		Phase FOV	1.00
		Auto Shim	Auto
		Phase Correction	No
		Flow Direction	Slice
		Compensation	
GATING/TRIGGER		USER CVS	
Auto Trigger Type	Off	User CV7	1.00
		User CV20	0.0
		User CV22	1.00
MULTI-PHASE		SAT	
Seperate Series	0	Tag Type	None
Mask Phase	0		
Mask Pause	0		
ASSET		TRICKS	
Slice Acceleration Factor	1.00	Pause On/Off	On
Phase Acceleration Factor	1.00	Auto Subtract	0
		Auto SCIC	Off
CONTRAST		MULTI-STATION	
Contrast Yes/No	No	Number of Stations	0
		Station Number	0

## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	2D
Coil Configuration	8HRBRAIN	Pulse Sequence	FSE-XL
Plane	AXIAL	Imaging Options	NPW, EDR, TRF, Fast
Series Description	+C. COR T1 FSE (opcional)		
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
TE	16.0	FOV	22.0
Number of Echoes	1	Slice Thickness	2.0
TR	475.0	Slice Spacing	0.2
Echo Train Length	3		
Receiver Bandwidth	31.25		
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	320
		Phase	224
		Freq DIR	A/P
		NEX	6.00
		Auto Shim	Auto
		Phase Correction	Yes
GATING/TRIGGER		USER CVS	
Auto Trigger Type	Off	User CV20	0.0
		User CV22	1.00
MULTI-PHASE		SAT	
Seperate Series	0	Tag Type	None
Mask Phase	0		
Mask Pause	0		
ASSET		TRICKS	
Slice Acceleration Factor	1.00	Pause On/Off	On
Phase Acceleration Factor	1.00	Auto Subtract	0
		Auto SCIC	Off
CONTRAST		MULTI-STATION	
Contrast Yes/No	Yes	Number of Stations	0
		Station Number	0

## Protocol: PERROS 8hipofisis 9

PATIENT POSITION		IMAGING PARAMETERS	
Patient Entry	Head First	Gradient Mode	ZOOM
Patient Position	Supine	Imaging Mode	2D
Coil Configuration	HEAD	Pulse Sequence	SPGR
Plane	AXIAL	Imaging Options	NPW, EDR, Fast
Series Description	DINAMICO FSPGR		
SCAN TIMING		SCAN RANGE	
Flip Angle	45	FOV	20.0
TE	Min Full	Slice Thickness	2.2
Number of Echoes	1	Slice Spacing	0.2
TR	51.0		
Receiver Bandwidth	62.50		
IMAGE ENHANCE		ACQ TIMING	
Filter Choice	None	Freq	256
		Phase	224
		Freq DIR	A/P
		NEX	2.00
		# of Acq. Before Pause	0
		Auto Shim	Off
		Phase Correction	No
GATING/TRIGGER		MULTI-PHASE	
Auto Trigger Type	Off	Seperate Series	0
		Mask Phase	0
		Mask Pause	0
SAT		ASSET	
SAT Location	I	Slice Acceleration Factor	1.00
Tag Type	None	Phase Acceleration Factor	1.00
TRICKS		CONTRAST	
Pause On/Off	On	Contrast Yes/No	Yes
Auto Subtract	0		
Auto SCIC	Off		
MULTI-STATION			
Number of Stations	0		
Station Number	0		



